
ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU TÉTANOS

(2^e MÉMOIRE)

ÉTIOLOGIE

PAR MM.

ET

L. VAILLARD,
médecin-major de 1^{re} cl., professeur
agrégé du Val-de-Grâce.

J. ROUGET,
médecin aide-major
de 2^e classe.

(TRAVAIL DU LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE DU VAL-DE-GRACE.)

Le tétanos de l'homme et des animaux reconnaît pour cause la contamination d'une plaie par des produits recelant les spores du bacille tétanique, forme sous laquelle ce dernier résiste aux agents de destruction et conserve sa vitalité dans les milieux extérieurs.

Les spores du bacille tétanique sont très répandues autour de nous; elles se rencontrent pour ainsi dire partout, dans le sol, les poussières des habitations, à la surface des végétaux, dans les excréments des herbivores, les fumiers, les eaux les plus pures et les vases qu'elles déposent. Nombreuses d'autre part sont les circonstances de la vie ordinaire qui peuvent apporter ces germes au contact d'une solution de continuité des tissus; or la clinique enseigne que la maladie survient aussi bien, sinon plus souvent, à la suite de plaies légères qu'après les traumatismes graves. Malgré ce concours de circonstances qui semblerait devoir multiplier les cas d'infection, le tétanos n'en reste pas moins une maladie rare.

Cette rareté du tétanos, malgré l'ubiquité du germe, relève

sans doute de conditions saisissables. Pour l'interpréter, il est loisible de supposer que si la pénétration du bacille spécifique dans une plaie est la cause essentielle du tétanos, cette cause ne suffit peut-être pas; à celle-ci doivent s'en ajouter d'autres dont l'intervention est nécessaire pour que la maladie se réalise. Quels sont alors ces facteurs secondaires? Dépendent-ils de la nature de la plaie? de la qualité ou de la provenance de la matière infectante? de l'action des microbes multiples qui sont toujours mélangés aux spores dans les milieux extérieurs? La plaie provocatrice du tétanos est, en effet, simultanément souillée par les spores spécifiques et par des espèces bactériennes différentes; parmi ces dernières, il en est peut-être qui déterminent dans les tissus des modifications propices à l'infection. Si l'intervention de certains agents est réellement indispensable à la genèse du tétanos, on conçoit encore que là où ils feront défaut, la maladie ne se produira pas, le microbe pathogène ne pouvant alors végéter dans la plaie. Autant d'hypothèses qui sont justiciables d'un contrôle expérimental. Il est facile, en effet, de réaliser chez l'animal les conditions les plus simples de l'infection, celles qui résultent, par exemple, de l'introduction de spores tétaniques à l'état de pureté dans les tissus sains ou dans les tissus modifiés par le traumatisme; puis de reproduire la complexité de l'infection naturelle en faisant agir concurremment les spores et les microbes qui les accompagnent dans les milieux extérieurs. Des résultats obtenus devra ressortir quelque lumière sur la part de chacun de ces facteurs dans la pathogénie de la maladie.

Au cours d'une étude sur le tétanos¹, l'un de nous, en collaboration avec M. Vincent, a déjà produit des faits expérimentaux qui fournissent un appui aux inductions ci-dessus. Mais, de ces faits, celui qui servait de base aux conclusions sur l'étiologie de la maladie a été contesté; les autres n'apportaient pas une démonstration complète.

Il était donc utile de reprendre l'étude de cette question afin de confirmer par de nouvelles preuves le point mis en doute, et d'établir d'une manière suffisante ceux qui avaient été simplement effleurés. Tel est le but de ce travail.

1. VAILLARD et VINCENT, Contribution à l'étude du tétanos. *Ann. Inst. Pasteur*, 1894.

I

LES SPORES TÉTANIQUES PURES ET PRIVÉES DE TOXINE NE SE DÉVELOPPENT PAS DANS LES TISSUS SAINS.

Les spores tétaniques existent dans la nature à un état un peu différent de celui que l'on observe dans les cultures du laboratoire. Ici, en effet, elles sont immergées dans un liquide contenant le poison que le microbe a élaboré durant sa végétation ; si on inocule à un animal des germes puisés dans ce milieu, on injecte en même temps une dose de poison capable par elle seule de provoquer le tétanos. Dans la nature il n'en est plus ainsi, et, pour des raisons faciles à concevoir, les spores s'y rencontrent dégagées de cette toxine préformée ; pénétrant dans les tissus, elles auront à germer et à végéter avant de sécréter le poison qui produira la maladie. Pour étudier comment les spores se comportent dans l'organisme vivant, il conviendra donc de se rapprocher le plus possible des conditions naturelles et d'opérer avec des spores privées de toute trace de toxine.

A. — *Des spores privées de toxine.*

Séparer les spores du poison que les bacilles ont élaboré dans une culture, sans altérer leur vitalité, n'est pas aussi simple qu'on pourrait le supposer. L'un de nous avait cru obtenir ce résultat par le chauffage à une température égale ou légèrement supérieure à 65°, ou par un lavage prolongé ; ni l'un ni l'autre de ces moyens ne suffit.

Résistance du poison tétanique à la chaleur. — L'emploi du chauffage à 65°-67° reposait sur cette notion généralement acceptée que le poison tétanique est détruit par la température de 65° maintenue pendant cinq minutes ¹. Mais cette notion n'est

1. Ce fait avancé par Knud Faber, reproduit par Tizzoni, avait paru exact à l'un de nous après constatation que le chauffage indiqué rendait inoffensifs pour le cobaye 2 et 3 c. c. d'une culture filtrée, qui antérieurement donnait le tétanos au même animal à la dose minima de 0^{cc},001. M. Kitasato a exprimé par la suite la même opinion.

pas exacte sous la formule qu'elle a reçue. Le chauffage à 65°-67° durant 5, 10 ou 15 minutes diminue considérablement, il est vrai, la toxicité des cultures filtrées, mais il ne la détruit pas : l'injection au cobaye de 6 ou 5^{cc} de liquide ainsi traité détermine soit un tétanos chronique, soit un tétanos mortel, suivant la richesse en toxine de la culture employée. Le poison supporte même, sans être annihilé, des températures bien supérieures appliquées pendant un laps de temps excédant cinq minutes. Ainsi des cultures filtrées, chauffées 10 et 15 minutes à 70°-75°, provoquent un tétanos mortel chez le cobaye lorsqu'on les inocule à la dose de 13^{cc}. Même après un chauffage de une heure à 80°, elles produisent encore, à la même dose, des symptômes tétaniques graves. Peut-être des températures plus élevées seraient-elles insuffisantes pour détruire entièrement la toxicité des cultures filtrées ¹.

Le poison tétanique est donc bien plus résistant qu'on ne l'admettait jusqu'ici; la chaleur l'atténue, mais la température de 80° ne supprime pas complètement son activité. Ce fait doit être pris en considération lorsqu'on injecte à un animal sensible comme le cobaye des doses fortes d'une culture chauffée à 65°-67°; celle-ci pourra contenir une quantité encore appréciable de toxine active. Il serait facile, il est vrai, d'éviter cette intervention du poison dissous dans les cultures en n'utilisant pour les inoculations que les spores elles-mêmes, séparées du liquide où elles se sont formées. Mais alors surgit une difficulté nouvelle.

Les bacilles tétaniques contiennent de la toxine. — La toxine que les bacilles tétaniques élaborent pendant leur culture ne diffuse pas en entier dans le liquide ambiant. Une quantité notable, voire même grande, reste contenue dans le corps des bacilles, et cette toxine, comme celle qui est dissoute dans le milieu nutritif, n'est pas détruite par les chauffages auxquels on soumet les spores.

1. Les recherches de cet ordre comportent des difficultés. Pour établir la limite de résistance à la chaleur du poison tétanique, il est nécessaire d'injecter au cobaye des doses considérables de cultures filtrées. Ces liquides sont évaporés dans le vide et réduits à 1 ou 2^{cc} avant d'être soumis au chauffage; or, à ce degré de concentration, ils déterminent sous la peau des lésions graves, suivies de sphacèle presque immédiat et de l'élimination partielle de la substance injectée.

L'existence du poison tétanique dans l'intérieur des bacilles pouvait être prévue depuis les travaux de Buchner, mais elle n'avait pas été signalée. Une épreuve très simple permet de l'établir. On décante avec le plus grand soin toute la partie liquide d'une culture achevée, de façon à ne recueillir que le dépôt microbien. Les spores ainsi obtenues sont chauffées à diverses températures, supérieures à 65°, puis additionnées d'eau stérile. Vers le 20^e ou le 25^e jour, l'eau où les germes ont séjourné renferme assez de toxine pour que, après filtration sur terre poreuse, elle puisse déterminer chez les cobayes, soit un tétanos mortel, soit un tétanos chronique. Quelques exemples en fourniront la preuve.

a. — Le dépôt d'une culture de 45 jours dans 50 c. c. de bouillon est chauffé pendant 20 minutes à 67°, puis additionné de 15 c. c. d'eau stérile. La macération se fait au contact de l'air, à la température de 38°. Après 24 jours, le liquide est décanté, filtré sur une petite bougie Chamberland, puis évaporé dans le vide jusqu'à réduction à 2 c. c. Ensemencé, ce liquide ne donne lieu à aucun développement. Injecté sous la peau d'un cobaye à la dose de 1 c. c. il provoque le tétanos et la mort en 20 heures.

b. — Le dépôt d'une culture de un mois dans 20 c. c. de gélatine est chauffé pendant 15 minutes à 70°, puis mis à macérer au contact de l'air et à la température du laboratoire dans 8 c. c. d'eau stérile. Après 24 jours, le liquide est filtré sur une petite bougie Chamberland, concentré dans le vide jusqu'à réduction à 1 c. c., et injecté ensuite sous la peau d'un cobaye. En moins de 24 heures l'animal devient tétanique et meurt le troisième jour. L'ensemencement du liquide provenant de la filtration est resté stérile.

c. — Le dépôt d'une culture de 28 jours dans 200 c. c. de bouillon est chauffé pendant une heure à 80°, puis additionné de 15 c. c. d'eau stérile. On laisse macérer au contact de l'air, à la température du laboratoire. Après 30 jours, le liquide est décanté, filtré sur terre poreuse, concentré dans le vide et injecté sous la peau d'un cobaye. Au cinquième jour, l'animal présente les premiers signes d'un tétanos qui devient chronique et se termine par guérison.

La nature du liquide dans lequel ont baigné les spores, et ce fait que la macération s'est effectuée au contact de l'air excluent toute possibilité d'une végétation des germes. La toxine contenue dans les liquides ne provient donc pas d'une sécrétion nouvelle, mais uniquement de cette réserve que les bacilles conservaient dans leur intimité et qu'ils ont cédée par dialyse. Il apparaît ainsi que, malgré le chauffage à 67° 70° et même 80°, les spores recèlent encore une quantité de

poison actif d'autant plus grande que la température de chauffe a été moins élevée.

Mais la filtration élimine de ces recherches la proportion notable de toxine qui a été retenue par la terre poreuse ; aussi les liquides sont-ils devenus, de ce fait, moins actifs qu'ils ne l'étaient à l'origine. Pour mieux apprécier la teneur en poison des cellules microbiennes, il convient de ne pas recourir à la filtration. Par le repos à une température constante, les spores que l'on fait macérer s'accumulent à la partie déclive du tube, surmontées par un liquide limpide, dont les tranches supérieures ne contiennent habituellement pas de bacilles. En puisant avec précaution on recueille, pour les inoculations, un liquide privé de germes ou n'en renfermant qu'un nombre négligeable. Si l'expérience ainsi faite n'a pas la même rigueur que la précédente, du moins elle offre l'avantage de ne rien laisser perdre de la toxine abandonnée par les spores ; et alors, par l'injection de doses relativement faibles, on peut vérifier la toxicité des liquides de macération. Ainsi des dépôts de cultures de 1 à 2 mois dans 10, 30, 50 c. c. de bouillon sont chauffés à 72° pendant 20, 30 et même 60 minutes, puis mis à macérer dans 5 ou 6 c. c. d'eau stérile. Après 15 et 20 jours, 1 c. c. ou 0^{cc},5 de ces liquides donnent aux jeunes cobayes un tétanos mortel. Celui-ci n'est point dû aux quelques spores qui ont pu être introduites sous la peau, car l'inoculation d'une quantité égale ou double du même liquide préalablement chauffé 10 ou 15 minutes à 67°, ne détermine pas la maladie chez les témoins. De même avec des dépôts de culture chauffés 60 minutes à 80°, ou 10 minutes à 90°, on constate que l'eau dans laquelle les spores ont été plongées renferme assez de poison pour produire des symptômes tétaniques chez les jeunes cobayes.

Une macération de 15 ou 20 jours ne suffit pas pour extraire la totalité du poison que contiennent les bacilles ; si on renouvelle plusieurs fois le liquide, on peut encore, après deux mois et plus, en trouver une quantité suffisante pour produire le tétanos. Le dépôt d'une culture de un mois dans 50 c. c. de bouillon est chauffé pendant une heure à 72°, puis additionné de 6 c. c. d'eau stérile. De 15 en 15 jours, à quatre reprises différentes, on décante le liquide et on le remplace par une égale quantité d'eau stérile. Le premier liquide décanté tue le cobaye à la dose de 0^{cc},5. Le

deuxième détermine, à la dose de 1 c. c., un tétanos très grave mais curable. 2 c. c. cubes du troisième provoquent un tétanos chronique. Enfin 3^{cc},5 de la quatrième macération déterminent encore des symptômes tétaniques localisés. Dans une expérience similaire, après deux mois et demi de macération comportant cinq renouvellements successifs, le dernier liquide a tué un jeune cobaye ¹.

Les spores provenant des cultures contiennent donc une grande quantité de poison, qu'elles n'abandonnent que lentement aux liquides dans lesquels on les immerge; peut-être aussi y existe-t-il sous une forme qui le rend moins altérable que le poison dissous dans les milieux nutritifs où le bacille a vécu ². Dès lors il est évident que lorsqu'on inocule à des animaux très sensibles, comme la souris et le cobaye, des doses un peu élevées de spores, que l'on croit privées de toxine par le chauffage à 67°, 70°, 75° et même 80°, on injecte en réalité des spores contenant une quantité plus ou moins grande de poison actif; celui-ci pourra, par lui seul, produire le tétanos et la mort, en dehors de toute végétation des germes inoculés.

Que l'on ait recours au chauffage ou au lavage, la difficulté est donc grande pour obtenir des spores rigoureusement privées de toxine; il est possible cependant de réduire cette dernière au minimum d'activité. La chaleur, en effet, l'atténue d'une manière sensiblement proportionnelle au degré de la température appliquée et à la durée de cette application. Un chauffage à 80° n'altère pas les germes. Même après 6 et 8 heures de ce traitement, ceux-ci conservent leur aptitude à végéter dans le bouillon et leur propriété pathogène; mais la toxine qu'ils retiennent se trouve, par contre, considérablement modifiée, d'autant plus que la température indiquée aura été maintenue pendant un temps plus long. Un chauffage de trois heures donne à cet égard

1. L'un de nous avait cru trouver dans le lavage des spores sur le culot d'une bougie Chamberland un moyen facile et rapide pour éliminer la toxine; les faits ci-dessus démontrent qu'un lavage, même de longue durée, ne conduirait pas sûrement à ce résultat.

2. Pour produire le tétanos chez le cobaye avec des cultures *filtrées* et chauffées à 70°, il faut injecter des doses de 10 à 13 c. c., tandis que 0^{cc},5 d'un liquide dans lequel ont macéré des spores chauffées 1 heure à 72°, suffit à provoquer le tétanos. Ou bien la quantité de poison contenue dans les spores est supérieure à celle qui diffuse dans le liquide de culture, ou bien le premier résiste mieux à la chaleur que le second. L'une et l'autre hypothèse sont plausibles.

des résultats favorables; non pas que le poison soit ainsi détruit, mais son altération est déjà suffisante pour que l'on puisse inoculer un nombre considérable de spores à un animal, sans l'intoxiquer du même coup. On conçoit toutefois qu'il existe, au point de vue des doses maxima, une limite qui ne doit pas être franchie; cette limite est imposée par la sensibilité variable de chaque espèce animale à la toxine qui reste active dans les spores. Le fait est surtout à retenir lorsqu'on opère sur le cobaye, dont la sensibilité aux plus faibles doses de poison est bien connue. A défaut de cette précaution, on risque de provoquer un tétanos, qu'une interprétation erronée imputera à la germination des spores, alors que l'examen du point infecté n'en fournit aucune preuve; la maladie aura été produite par la toxine préformée que les spores ont introduite dans les tissus.

B. — Les spores pures ne germent pas dans les tissus sains.

En s'appuyant sur les notions précédentes, il est facile de démontrer que les spores tétaniques pures n'ont aucune tendance à végéter dans les tissus sains, même lorsqu'elles y pénètrent en nombre considérable.

Expérimentation sur le cobaye. — Dans un mémoire antérieur, l'un de nous a avancé que l'on pouvait, sans provoquer le tétanos, injecter au cobaye une dose élevée de culture en bouillon, préalablement chauffée à 65°-67°. Bien que ces conditions soient de beaucoup les moins favorables à la démonstration, puisque la température appliquée laisse encore dans les spores une quantité très notable de toxine active, il a paru utile de répéter ces expériences pour en confirmer l'exactitude; leurs résultats auront peut-être une valeur particulière pour ceux qui attribueraient aux chauffages plus énergiques une action défavorable sur la vitalité des germes, ce qui n'est pas.

Trente cobayes, jeunes pour la plupart, ont reçu de 1/2 à 2/3 de c. c. de cultures en bouillon datant de 18 jours à 3 mois, chauffées pendant 30 minutes à 67° et 68°. Un seul de ces animaux, âgé de deux mois, mourut tétanique; l'examen du foyer d'inoculation a permis d'établir que le tétanos n'avait pas été provoqué par la germination des spores. Des 29 autres cobayes,

3 présentèrent une raideur passagère des muscles voisins du point d'inoculation, et 26 n'ont manifesté aucun trouble appréciable.

Cependant le nombre des spores injectées avait été considérable. On a recherché, en effet, par des ensemencements en gélatine, quelle était la proportion approximative des spores contenues dans le volume de culture inoculé, et bien que la valeur de ces numérations ne soit pas absolue, les résultats qu'elles ont fournis ne méritent pas moins d'être cités. Les chiffres suivants ont été relevés pour divers essais :

1,734,000 spores.	1,800,000 spores.
1,456,000 —	2,456,000 —
1,224,000 —	1,600,000 —
1,568,000 —	1,565,000 —

Quel produit tétanigène recueilli dans le sol ou les plaies recélera jamais autant de germes que ces volumes de culture inoculés impunément!

Les doses supérieures aux précédentes peuvent être mortelles. Un centimètre cube est parfois bien toléré, mais d'autres fois, et cela dépend surtout de la richesse de la culture employée ¹, le tétanos survient. Alors, au point de l'inoculation, on constate un fait qui serait de nature à surprendre, si les notions établies plus haut n'en donnaient l'explication. Les spores sont restées à l'état de germes, inclus presque tous dans les leucocytes. Nulle part, malgré l'examen le plus minutieux, on ne rencontre des bacilles filamenteux impliquant une végétation. Les spores n'ont pas évolué et cependant le tétanos s'est produit; c'est que ces spores contenaient encore de la toxine active qui, diffusant dans la lymphe ambiante, a suffi pour provoquer la maladie.

Avec les cultures en bouillon chauffées à 80° pendant trois heures, la dose inoffensive s'élève notablement. On peut en injecter 1 c. c., 1^{cc},5 sous la peau ou dans le péritoine des cobayes adultes. Des animaux de forte taille résisteront à 2 c. c. et même 2^{cc},5. Mais ces dernières doses ne sont pas toujours supportées, et il survient parfois, soit un tétanos localisé et

1. Les cultures en gélatine sont toujours plus abondantes que les cultures en bouillon et contiennent, à volume égal, un nombre de bacilles bien plus grand que ces dernières; de ce fait, les doses des unes et des autres que l'on peut injecter impunément au cobaye ne sont pas identiques.

curable, soit un tétanos mortel. Chez les animaux qui succombent, on ne trouve encore aucun indice de la germination des spores; la pathogénie de ce tétanos est justiciable de la même interprétation que ci-dessus.

Le cobaye qui ne résiste pas à l'inoculation d'un produit tétanigène provenant de la terre ou d'une plaie, tolère donc des milliers de spores lorsque celles-ci sont introduites pures dans un tissu sain; on est bien fondé à dire que, dans ces conditions, les germes du tétanos sont incapables de prospérer.

Cette notion et les conséquences qui peuvent en découler ont été contestées. Dans une courte communication à la Société de Biologie¹ visant le travail où ce fait était établi pour la première fois, M. Sanchez-Toledo a avancé que l'inoculation au cobaye de 0^{cc},5 d'une culture en bouillon ou en gélatine, chauffée pendant une heure à 70, 80 et même 90°, déterminait le tétanos et la mort en 24 heures; que, par suite, toutes les déductions sur la pathogénie du tétanos dérivées de la notion ainsi infirmée, ne pouvaient être acceptées. La réponse déjà donnée par l'un de nous² à la note dont il s'agit, dispensera de discuter longuement la valeur de cette négation sommaire. Mais il convient de rappeler que, dans des expériences contradictoires, M. Sanchez-Toledo n'a pu reproduire les résultats qui avaient motivé ses conclusions. Cinq cobayes auxquels il a inoculé alors de 1/8 à 2/3 de c. c. de ses cultures chauffées pendant une heure à 72°, n'ont présenté aucun symptôme tétanique, comme d'ailleurs les animaux inoculés par nous, en sa présence, avec des doses variables de cultures chauffées à 67°. Cette double épreuve a donc confirmé les notions que M. Sanchez-Toledo avait cru, trop prématurément il est vrai, devoir contredire. De ce que cet auteur a pu obtenir, dans des expériences successives, des résultats aussi contraires, d'abord positifs, puis négatifs, il faut conclure qu'il n'avait pas toujours opéré dans des conditions identiques, semblables à celles que nous réalisions. Une cause d'erreur a pu se glisser dans ses premières recherches. L'inoculation de 0^{cc},5 de cultures chauffées pendant une heure à 70, 80,

1. SANCHEZ-TOLEDO, De la virulence du microbe du tétanos débarrassé de ses toxines. *Soc. de Biologie*, 20 juin 1891.

2. VAILLARD, Sur l'inoculation aux animaux du bacille tétanique dépourvu de toxine. *Soc. de Biologie*, juillet 1891.

90° tuait, dit-il, les cobayes en 24 heures. Or, tous ceux qui ont l'habitude d'expérimenter sur le tétanos savent qu'une évolution aussi rapide de la maladie ne survient chez le cobaye qu'après l'injection de doses relativement grandes de toxine. Jamais, avec les cultures chauffées aux températures indiquées, même en exagérant outre mesure les doses, nous n'avons pu reproduire des résultats semblables. Ainsi, après l'injection dans le péritoine du cobaye de 10, 15, 20 et même 30 c. c. de cultures en bouillon chauffées une heure à 90, 85, 82 et 80°, les premiers signes du tétanos n'apparurent que dans un délai variant entre 48 heures (cas le plus rare) et 4 jours; la mort est survenue du troisième au dixième jour qui a suivi l'inoculation. De ce fait nous nous croyons autorisés à conclure que si M. Sanchez-Toledo a provoqué en 24 heures le tétanos et la mort des cobayes, c'est sans doute parce que le chauffage de ses cultures n'avait pas été effectif : les spores inoculées contenaient une telle proportion de poison actif que les animaux mouraient sidérés par une intoxication immédiate, laquelle n'avait rien de commun avec le tétanos consécutif à la végétation des germes.

L'exactitude du fait que nous avons avancé reste donc entière. Cette innocuité des spores pures et sans toxine n'est en rien subordonnée à des conditions tenant à la provenance du bacille tétanique, à l'âge de ses germes ou au milieu nutritif dans lequel ils se sont formés. Les résultats sont identiques lorsqu'on inocule comparativement nos cultures habituelles dérivées d'un tétanos humain, et les cultures empruntées à MM. Nocard, Kitasato et aussi à M. Sanchez-Toledo. Que les spores soient âgées de un mois ou de six mois, qu'elles aient été formées en gélatine ou en bouillon, dans le vide absolu ou relatif, les résultats sont semblables. Il n'y a donc pas lieu de faire intervenir, comme l'estimait à tort M. Sanchez-Toledo pour expliquer les faits contraires aux siens, une question de races de bacilles, ou cette hypothèse assez obscure d'une maturation plus ou moins parfaite des spores tenant à l'âge des cultures.

Expérimentation sur le lapin. — Comme le cobaye, le lapin est réceptif à l'égard du tétanos; les mêmes produits, terre ou pus, qui déterminent la maladie chez le premier, la provoquent aussi sûrement chez le second. Mais la sensibilité de ces animaux

au poison élaboré *in vitro* par le bacille tétanique est fort inégale. L'un réagit très vivement aux doses les plus minimes, l'autre fait preuve, au contraire, d'une tolérance remarquable : pour tétaniser un lapin il faut une quantité de toxine 2,000 et 3,000 fois supérieure à celle qui suffit à tuer un cobaye.

En raison même de sa réceptivité pour le virus tétanique provenant de la terre ou des plaies, et de sa résistance à la toxine des cultures, le lapin se prête mieux encore que le cobaye à la démonstration du fait qu'il s'agit d'établir. Le poison que les spores retiennent après le chauffage devient, en effet, un facteur presque négligeable, et l'on peut injecter à cet animal des quantités de spores qui paraîtront invraisemblables. Ainsi l'incubation sous la peau ou dans le péritoine de 10 c. c. de cultures en bouillon chauffées 30 minutes à 68° n'est suivie d'aucun trouble appréciable. Avec les cultures chauffées pendant trois heures à 80°, la dose inoffensive devient réellement considérable : des lapins auxquels on a injecté du même coup, sous la peau ou dans le péritoine, toutes les spores contenues dans 30, 40, 50 et même 65 c. c. de culture en bouillon, n'ont présenté ultérieurement aucun symptôme tétanique, et restent encore en bonne santé après plusieurs mois. Un animal qui avait reçu dans le péritoine le dépôt d'une culture dans 60 c. c. de bouillon a seul montré une raideur passagère du tronc et des muscles abdominaux.

N'est-il pas surprenant que de pareilles quantités de germes puissent séjourner dans l'organisme sans provoquer le tétanos ! Ces faits démontrent bien que les spores sont incapables de germer lorsqu'elles pénètrent pures, dans un tissu sain, chez un animal en bonne santé.

II

POURQUOI LES SPORES TÉTANQUES NE GERMENT PAS LORSQU'ELLES SONT
INJECTÉES PURES DANS UN TISSU SAIN.

Si, dans les faits précités, les spores n'ont pas provoqué le tétanos, la cause n'en est point que leur activité pathogène fût amoindrie, car il suffit d'ajouter de l'acide lactique à une dose bien minime de ces mêmes cultures chauffées à 80° pour donner sûrement une maladie mortelle au cobaye et au lapin. D'autre

part il ne saurait être ici question d'une action bactéricide exercée par les humeurs. Le sérum des lapins et des cobayes n'est pas un milieu hostile pour les spores, qui s'y développent en produisant un poison d'une extrême activité ; elles germent d'ailleurs aussi bien dans le sérum et même les tissus d'un lapin immunisé contre le tétanos ¹. Les spores n'ont pas végété parce que, dès leur introduction sous la peau ou dans le péritoine, elles ont été englobées, immobilisées, puis détruites par les éléments cellulaires.

A. — *Les spores sont englobées par les phagocytes.*

Le rôle prophylactique des leucocytes a été déjà signalé par l'un de nous. Il se déduisait de constatations qui, pour être exactes, n'avaient pas cependant une valeur absolument démonstrative. Aussi convenait-il d'établir sur des faits nouveaux que la préservation des animaux contre les grandes doses de spores sans toxine résulte bien de l'intervention des cellules phagocytaires.

Une première preuve est fournie par l'examen direct de la région infectée.

Après l'inoculation sous la peau du cobaye, en plusieurs points, de 1 c. c. d'une culture chauffée à 80°, il se produit un épaississement modéré du tissu conjonctif qui, d'abord diffus, se limite et se réduit ensuite à une petite nodosité. Cette tuméfaction traduit un afflux de leucocytes polynucléaires dont l'accumulation va former un nodule blanc jaunâtre, d'apparence puriforme. En excisant ces foyers à divers moments pour examiner leur contenu, il devient facile, sur des préparations colorées d'abord à la fuchsine phéniquée de Ziehl, puis au bleu de méthylène, de suivre le sort des spores et de saisir leurs rapports avec les éléments cellulaires. On constate ainsi que, 24 heures après l'inoculation, les leucocytes abondent au point infecté. Déjà presque tous contiennent des

1. Chez les lapins immunisés contre le tétanos par les injections intra-veineuses de toxine modifiée par la chaleur ou l'iode, le sang possède une propriété antitoxique remarquable, bien connue depuis les travaux de MM. Behring et Kitasato. Ce sang n'en constitue pas moins un bon milieu de culture pour le bacille tétanique. Si on y sème des spores chauffées pendant trois heures à 80°, celles-ci se développent très abondamment; la culture obtenue renferme plus de bacilles filamenteux que de bacilles sporulés, mais elle est extrêmement toxique.

spores dont le nombre varie de 1 à 30 et même plus; certaines cellules sont distendues par l'amas des germes qu'elles ont englobés. Quelques spores sont encore libres. Mais on ne peut affirmer qu'elles se présentent ainsi parce qu'elles n'ont pas été englobées : les manipulations et aussi l'action des réactifs sur les leucocytes ont pu rompre certains de ces derniers, et mettre en liberté les germes qu'ils contenaient. Après 2 et 3 jours, il n'existe plus de spores en dehors des cellules; toutes sont incorporées dans les leucocytes, et quelques-unes apparaissent très réduites de volume. Du 4^e au 6^e jour, la nodosité n'a plus que des dimensions restreintes : les leucocytes y sont moins abondants, et moins nombreux aussi sont les germes colorables dans le protoplasma cellulaire. Passé ce délai, il est parfois difficile de retrouver la trace de l'injection.

Les mêmes faits s'observent chez le lapin. Lorsqu'on injecte sous la peau de cet animal de grandes quantités de spores chauffées à 80°, il se produit encore une réaction très vive aux points d'inoculation. C'est d'abord une tuméfaction diffuse avec rougeur et chaleur de la peau. Puis les phénomènes phlegmasiques s'atténuent, et il se forme une tumeur molle, rénitente, du volume d'une noisette, qui diminue lentement et reste encore appréciable après 3, 4 et 5 mois. Sur un même animal, l'examen successif des divers foyers permet de suivre l'évolution des phénomènes.

Six heures après l'inoculation, on trouve dans le tissu conjonctif un exsudat membraneux, grisâtre, formé par un amas cohérent de leucocytes polynucléaires. Presque tous renferment de 1 à 30 spores. Mais les germes libres sont encore abondants; ils dominent même. Après 24 heures, l'exsudat est devenu plus épais, plus riche en leucocytes. La proportion des spores libres a diminué et se montre inférieure à celle des spores incluses dans les cellules ¹. La difficulté que l'on éprouve à dissocier l'exsudat dans une goutte d'eau oblige à se demander si beaucoup de ces

1. Les spores tétaniques germent avec une certaine lenteur, bien différentes en cela de beaucoup d'autres spores pathogènes qui commencent à végéter dès les premières heures de leur introduction dans les tissus. C'est un fait bien connu qu'après l'inoculation d'une terre tétanigène, les symptômes tétaniques n'apparaissent que du 3^e au 4^e jour; il en est de même dans la plupart des cas d'infection expérimentale. Cette circonstance explique pourquoi, chez les lapins ou les cobayes qui reçoivent des quantités considérables de spores sous la peau, quelques

germes libres ne proviennent pas de la destruction des cellules migratrices. — Après 48 heures, toutes les spores sont englobées, et déjà aussi on constate une diminution sensible dans le nombre des germes colorables. Vers le 4^e ou le 5^e jour, l'aspect du foyer s'est modifié ; on y trouve une matière blanc jaunâtre, pâteuse, puriforme, s'énucléant facilement après l'incision. Dans ce contenu, beaucoup de leucocytes sont en voie de dégénérescence et ne renferment plus de spores ; les autres, ceux qui contiennent des germes colorables, commencent à devenir rares. Il est visible que beaucoup des spores injectées ont disparu, et cette destruction continue encore par la suite ¹.

Il ressort d'une manière constante que la pénétration des spores pures dans un tissu sain a pour effet immédiat de provoquer un afflux de cellules phagocytaires au point menacé ; celles-ci englobent rapidement les spores et les immobilisent dans leur protoplasma. On est naturellement porté à admettre une corrélation étroite entre ce phénomène et la préservation des animaux. Si les milliers ou les millions de spores lancées dans les tissus n'ont pu germer et produire le tétanos, n'est-ce pas uniquement parce qu'elles ont été réduites à l'impuissance par les leucocytes ?

B. — *Les spores germent et provoquent le tétanos lorsqu'elles sont protégées contre les phagocytes.*

La notion qui précède, si elle est exacte, entraîne la conséquence suivante : tout facteur capable d'amoindrir ou d'annihiler le rôle des leucocytes permettra par cela même la végétation des spores. En protégeant, par exemple, les spores contre les phagocytes, il doit être facile de provoquer le tétanos avec une quantité minime de ces mêmes cultures qui naguère étaient inoffensives à haute dose. C'est ce qui se produit.

unes de celles-ci peuvent, sans préjudice pour l'animal, rester libres pendant 24 ou 36 heures avant d'être englobées à leur tour ; la lenteur du développement de ces germes permet précisément aux leucocytes d'intervenir avant que leur végétation ne devienne un fait accompli.

1. Il importe d'être prévenu que les cobayes et les lapins qui servent à ces recherches meurent fréquemment du tétanos, tandis que les témoins restent indemnes. Les traumatismes résultant de l'excision des foyers, les hémorragies qu'ils provoquent, et surtout la souillure de la plaie par des impuretés, suffisent à créer, comme il sera établi ultérieurement, des conditions très propices à la végétation des spores qui sans ce concours seraient restées inactives.

L'acide lactique exerce sur les leucocytes une action répulsive; cette propriété nous était connue avant que MM. Massart et Bordet l'aient récemment bien démontrée. Lorsqu'on injecte sous la peau et mieux encore dans les muscles du cobaye, un mélange d'acide lactique et d'une goutte ou deux de culture tétanique chauffée à 67 ou 80°, on introduit avec les spores un agent chimique capable d'éloigner les cellules migratrices du point infecté pendant un certain délai. Grâce à cette protection, les spores peuvent germer et produire la maladie. Tous les cobayes ainsi inoculés meurent tétaniques.

De même, chez le lapin qui résiste à 50 et 63 c. c. de cultures chauffées, on provoque le tétanos avec 1/8 ou 1/3 de c. c. de ces mêmes cultures lorsqu'elles sont additionnées d'acide lactique, puis injectées dans un muscle. Chez l'un et l'autre animal, les leucocytes font défaut dans la portion du muscle où l'inoculation a été faite.

Mais l'acide lactique agit peut-être d'une manière complexe, car il altère aussi la vitalité des tissus et produit parfois de véritables nécroses¹.

Par un artifice réduisant les phénomènes à leur plus grande simplicité, il est facile de fournir une démonstration évidente du fait à établir. C'est ce qui ressort de l'expérience suivante; elle consiste à infecter les animaux avec une quantité extrêmement faible de spores que l'on protège contre les leucocytes par une enveloppe de papier à filtrer. Cette barrière n'est pas infranchissable pour les cellules phagocytaires, mais elle suffit à retarder leur migration vers l'agent pathogène, ce qui permet aux spores de végéter et aux bacilles néoformés de sécréter le poison. Toutefois la protection des spores ne devient efficace que si l'on donne une épaisseur convenable à l'obstacle opposé à la marche des leucocytes; ceux-ci, dans le cas contraire, peuvent, en moins de 24 heures, arriver jusqu'aux germes et les englober. D'autre part l'expérience n'est probante que si elle est faite dans des conditions de pureté absolue.

La technique suivante donne les meilleurs résultats: elle se résume à fixer d'abord les spores par dessiccation sur du sable

1. On a pu se méprendre sur le mode d'action de l'acide lactique et penser qu'il favorisait la végétation des spores en créant un milieu acide plus favorable à leur culture: or, le même résultat est obtenu en associant aux spores des agents chimiques très alcalins, comme la triméthylamine.

stérile, puis à inclure celui-ci dans un étui de papier également stérile. Une bande de papier Berzélius, de 3 à 4 centimètres de longueur sur 1 de large, est enroulée autour d'une tige mince, de façon à former une enveloppe régulière dont une extrémité est aussitôt oblitérée par une couche de collodion. Plusieurs de ces étuis ainsi préparés sont stérilisés à l'autoclave, puis séchés. En même temps, du sable fin, stérile et sec, est imprégné avec 2 à 3 gouttes d'une culture chauffée à 80°. Après une nouvelle dessiccation à l'étuve, le sable est introduit en petite quantité dans chaque rouleau de papier, par l'extrémité restée ouverte ; celle-ci est oblitérée avec une goutte de cire ou mieux de collodion. On procède commodément et avec pureté à ce remplissage, en interposant une feuille de papier stérile entre l'étui et les doigts qui le tiennent.

L'insertion de ces petits appareils peut être faite soit sous la peau, soit dans le péritoine du cobaye. Mais il importe de recourir à la plus stricte asepsie pendant cette opération, et de protéger ensuite la plaie contre toute souillure ultérieure. Ce n'est pas que, faute de ces précautions, l'issue de l'expérience puisse devenir incertaine, car toujours les cobayes ainsi infectés prennent le tétanos ; mais si des microbes d'impureté ont pénétré dans la plaie, le résultat perd toute valeur démonstrative.

Lorsque l'on introduit sous la peau ou dans le péritoine des cobayes un étui contenant, par exemple, 1/60^{cc} d'une culture tétanique chauffée à 80, 82, 85°, tous les animaux deviennent tétaniques dans un délai habituel de 4 ou 5 jours ; presque tous succombent dans les 24 ou 36 heures qui suivent le début des accidents. Sur 14 cobayes ainsi infectés, 12 sont morts, 2 ont eu un tétanos chronique et ont résisté.

A l'autopsie, si l'expérience a été bien faite, on ne constate aucune réaction appréciable dans le péritoine ou la plaie qui loge le corps étranger, sauf parfois une très légère hyperémie. L'enveloppe de papier est humide et rosée. Les leucocytes l'ont pénétrée de toute part, mais tandis qu'ils abondent sur les couches superficielles, ils sont de moins en moins nombreux dans la profondeur, et rares dans les replis contigus au sable. L'examen microscopique et lesensemencements ne montrent aucun microbe d'impureté soit dans la plaie, soit dans l'étui de papier. Le sable

est humide. Agité dans une goutte d'eau, il la louchit très légèrement en lui abandonnant les éléments qu'il supporte. Dans ce liquide, les leucocytes sont si clairsemés qu'ils se comptent généralement par unités. Mais on y trouve une quantité parfois considérable de bacilles filamenteux, de bâtonnets sans renflements qui représentent le produit de la germination des spores.

L'interprétation de cette expérience est simple. L'étui de papier n'oppose aucun obstacle au passage de la lymphe, qui rapidement humecte le sable et crée aux spores un milieu de culture favorable. Par contre, en raison de son épaisseur, il retarde la migration des leucocytes et leur arrivée au centre de la masse. Grâce à ce répit, les spores peuvent végéter, et les bacilles issus de ces germes élaborer la toxine. Lorsque les cellules migratrices parviennent enfin au contact du sable, le temps de la lutte efficace est passé. La toxine déjà produite a diffusé à travers le papier et s'est répandue dans les humeurs. Peut-être aussi les bacilles sont-ils protégés contre les phagocytes par le poison même qu'ils élaborent. Jamais, en effet, on ne voit de bâtonnets inclus dans les cellules qui ont pénétré jusqu'au sable, tandis que parfois elles contiennent une ou deux spores qui, plus lentes à germer, ont été englobées : nous avons constaté que les cultures tétaniques non chauffées possèdent une propriété chimiotactique négative ; les spores chauffées sont douées d'une propriété inverse. Dès lors les bacilles peuvent continuer à se multiplier et à sécréter le poison. En raison de leur mobilité, ils traversent quelques replis du papier et on les suit parfois, libres au milieu des leucocytes, jusque dans les parties de l'étui voisines de la surface.

Le même procédé permet de provoquer le tétanos chez le lapin avec une quantité de culture bien minime. En insérant sous la peau du ventre de l'animal, entre le peaucier et le plan musculaire sous-jacent, un étui de papier imprégné de quelques gouttes d'une culture chauffée à 80°, on détermine un tétanos qui débute ordinairement vers le 7^e jour, et se caractérise par du pleurosthotonos avec raideur des membres du même côté. Mais la maladie se limite à ces symptômes et les lapins guérissent.

Un moyen dont le mode d'action est différent de celui qui précède, bien que s'exerçant dans un sens analogue, permet

encore de déterminer un tétanos mortel chez le lapin avec une dose modérée de culture : il consiste à reproduire l'expérience bien connue dans laquelle M. Bardach faisait périr du charbon les chiens adultes en leur injectant dans le sang, avant l'infection, du charbon végétal finement pulvérisé. A un lapin on injecte en trois jours, mi-partie dans le sang et mi-partie dans le péritoine, une dose totale de 12 c. c. d'eau stérile tenant en suspension une fine poussière de charbon de bois ; 24 heures après on inocule dans une veine de cet animal 1 c. c. d'une culture tétanique chauffée 3 heures à 80°. Au neuvième jour qui suit, apparaissent les premiers signes d'un tétanos généralisé d'emblée qui devient mortel en moins de 24 heures. Comme chez les chiens rendus charbonneux, les cellules de tous les organes sont infiltrées de particules noires. Acceptant l'interprétation que M. Bardach a donné de ses expériences, nous pensons avec lui que les phagocytes gorgés de charbon deviennent incapables d'englober les bactéries et leur laissent alors la liberté de pulluler.

Ainsi donc on ne provoque pas le tétanos chez le cobaye en inoculant sous la peau ou dans le péritoine 1 c. c., 1^{cc},5 d'une culture chauffée à 80°, mais on donne sûrement le tétanos à cet animal avec une dose 100 ou 200 fois moindre lorsque, par un artifice incapable de modifier la vitalité des tissus ou la qualité des humeurs, on protège les spores contre les cellules phagocytaires. De même chez le lapin qui supporte 40, 50, 65 c. c. de cultures chauffées, le tétanos survient dans les conditions indiquées, lorsqu'on l'infecte avec des doses très minimes de ces mêmes cultures. Rapprochant cette notion du fait que chez les animaux, cobayes ou lapins, qui résistent à l'inoculation de grandes quantités de spores pures, celles-ci sont rapidement englobées par les leucocytes, on est en droit de conclure que cet englobement du virus par les cellules phagocytaires est bien la cause unique et suffisante de l'immunité contre cette infection.

C. — *Les spores sont détruites par les phagocytes.*

Que deviennent les spores incorporées dans le protoplasma des leucocytes ? Il est facile de le savoir par l'examen méthodique du tissu où elles ont pénétré, et le lapin est très approprié à ces recherches.

Lorsqu'on introduit sous la peau de cet animal une grande quantité de spores chauffées, il se produit en ce point un afflux de leucocytes et, bientôt après, une tumeur saillante dont le volume varie avec la dose injectée; une enveloppe fibreuse, d'abord mince, se forme à la périphérie de cet amas cellulaire, et la nodosité ainsi enkystée persiste pendant plusieurs mois. Les spores et les cellules restent donc sur place, au lieu de se disperser au gré de la migration des cellules blanches, comme il se produit après l'inoculation dans le péritoine. Le conflit se trouvant circonscrit sur un étroit espace, il est facile d'en suivre toutes les phases; il suffit d'inciser le foyer et d'en extraire des parcelles qui seront examinées après coloration par la fuchsine de Ziehl et le bleu de méthylène.

Quarante-huit heures après l'inoculation, toutes les spores sont englobées par les leucocytes, et presque tous ceux-ci en contiennent. Déjà, à ce moment, un certain nombre de ces germes présentent des signes évidents d'altération. Dans une même cellule, à côté de spores de volume normal et bien colorées par la fuchsine, on en trouve d'autres dont le diamètre est réduit, ou qui ne sont plus représentées que par un point à peine visible; celles-ci retiennent mal la couleur rouge et se teignent en bleu. Les germes ainsi modifiés sont entourés d'une zone claire, semblable à ces vacuoles protoplasmiques qui se forment dans les phénomènes de digestion intra-cellulaire. L'idée surgit naturellement qu'il s'agit là de faits identiques, et que la réduction progressive du volume des spores traduit une destruction graduelle par les sucs de la cellule. Cette opinion se confirme à l'examen d'un foyer datant de 5 ou 6 jours. On est alors frappé de la diminution considérable des spores colorables. Un très grand nombre de leucocytes n'en renferme plus : leur protoplasma ne montre que des vacuoles contiguës, vides pour la plupart; dans quelques-unes on distingue encore un point central, infiniment petit, qui marque le dernier vestige de la spore en voie de disparition. Les leucocytes contenant des spores intactes commencent à devenir rares, et toujours on y trouve aussi des germes à tous les degrés de l'altération décrite.

Beaucoup de spores disparaissent donc dès les premiers jours qui suivent leur englobement. Mais toutes ne sont pas détruites avec la même rapidité; quelques-unes résistent

pendant très longtemps. Après l'effort immédiat qu'ont produit les cellules, il se manifeste un ralentissement dans leur activité destructrice : les spores qui ont résisté diminuent de nombre par la suite, mais graduellement et avec lenteur.

Dans les foyers de 15 et 25 jours, on trouve, au milieu de cellules dégénérées, des leucocytes normaux contenant une ou deux spores intactes. Après 40, 50 jours, les nodosités ne montrent guère plus qu'un amas de débris cellulaires résultant de la désintégration des leucocytes qui ont achevé leur œuvre, mais il y existe aussi quelques rares spores colorables, isolées dans des leucocytes dont la morphologie n'est pas modifiée. Plus tard encore, après 80 et même 94 jours, en multipliant les préparations, on arrive à rencontrer quelques spores encore intactes, solitaires dans un phagocyte. L'extrême rareté des germes dans ces vieux foyers indique que la limite de leur résistance est bien près d'être atteinte.

Les mêmes faits se constatent chez le cobaye, c'est-à-dire que dans les 5 ou 6 premiers jours qui suivent l'inoculation, la plupart des spores sont détruites par les cellules, suivant un mode identique à celui qui a été observé sur le lapin. Mais, chez cet animal encore, toutes les spores ne sont pas détruites avec la même rapidité; après trois mois et demi il s'en trouve qui restent vivantes dans le leucocyte où elles séjournent.

Ces germes, toujours rares, qui persistent ainsi pendant des mois, sont bien vivants; de plus ils n'ont rien perdu de leur aptitude pathogène. Ensemencés, ils se développent en donnant des cultures très toxiques; inoculés, ils provoquent le tétanos aussi rapidement que les spores prises dans les cultures les plus récentes. Le contenu d'un foyer datant de 25 jours, chez le lapin, est broyé dans une solution lactique, puis injecté sous la peau d'un cobaye; 24 heures après l'animal est tétanique, et il meurt le lendemain. L'ensemencement d'un foyer de 94 jours a donné une culture dont une goutte suffisait pour tuer un cobaye en 36 heures.

Les leucocytes ne bornent donc pas leur action à englober et à immobiliser les spores tétaniques, ce qui suffit déjà pour préserver l'animal; ils les détruisent suivant un mode comparable aux phénomènes de digestion intra-cellulaire. Pour une grande partie des germes absorbés, cette destruction est rapide,

car elle s'accuse surtout dans les 5 ou 6 premiers jours qui suivent l'englobement. Mais, soit que la résistance des germes varie, soit encore que toutes les cellules ne présentent pas une égale aptitude à les digérer, quelques spores peuvent rester intactes, vivantes, virulentes dans le protoplasma cellulaire pendant trois mois et plus. Cette notion trouvera peut-être sa place dans l'interprétation pathogénique de certains tétanos d'origine obscure. Un exemple rapporté plus loin montrera qu'après un sommeil de trois mois et demi, les germes sont capables de végéter et de donner le tétanos à l'animal qui les porte.

III

COMMENT LE TÉTANOS SE PRODUIT DANS LES CONDITIONS NATURELLES DE L'INFECTION.

L'innocuité des spores injectées pures et sans toxine aux cobayes et aux lapins contraste étrangement avec les résultats que donne, chez les mêmes animaux, l'inoculation d'une parcelle de terre tétanigène. Alors le tétanos se produit, et cependant la proportion des germes contenus dans la matière inoculée est réellement infime, si on la compare aux milliers ou millions de spores qui, précédemment, restaient inactives; lorsqu'en effet, par les cultures, on cherche à extraire d'une terre tétanigène le bacille spécifique qui s'y trouve, c'est à peine si, dans plusieurs essais, on parvient à rencontrer 2 ou 3 colonies, et encore la réussite est-elle bien loin d'être la règle.

Quelques spores éparses dans un fragment de terre déterminent donc un effet que ne peuvent produire des milliers de germes formés et mûris dans les cultures. Serait-ce là le fait d'une propriété inhérente aux spores ayant séjourné dans le sol, et les résultats enregistrés avec celles qui proviennent du bouillon ou de la gélatine n'auraient-ils que l'intérêt d'une bizarre exception? Il n'en est rien, car les unes et les autres se comportent d'une manière identique, lorsqu'on les fait agir dans des conditions semblables. Ainsi il suffit de chauffer à 80° ou mieux à 85° pendant 60 minutes une terre dont l'inoculation provoque

infailliblement le tétanos chez les témoins ¹, pour la rendre inapte à produire ce résultat. Cependant cette terre chauffée recèle des spores vivantes et douées de leur activité pathogène, puisqu'à l'aide d'un moyen dont il sera parlé plus loin il est facile de lui restituer ses propriétés tétanigènes. Ce qui est vrai de la terre l'est également du pus recueilli dans la plaie d'un tétanique. Le chauffage préalable de la terre ou du pus n'a eu d'autre but et d'autre effet que de détruire la plupart des microbes étrangers que tous deux contenaient, de purifier le plus possible la matière inoculée. De cette expérience simple il ressort que les spores prises dans la terre et le pus ne végètent pas dans les tissus lorsqu'elles y pénètrent à l'état de pureté, et, sans doute, elles ne végètent pas parce qu'elles sont englobées par les phagocytes. Les notions établies dans la première partie de ce travail acquièrent donc ainsi une portée générale : elles s'appliquent à toutes les spores tétaniques, quelle que soit leur provenance.

Puisque les spores de la terre ou de tel autre produit virulent ne peuvent pas provoquer le tétanos lorsqu'elles interviennent seules, il faut nécessairement admettre que dans tous les cas où la maladie survient après l'infection par la terre, le pus, etc., les spores reçoivent un secours quelconque qui leur permet de germer. L'étiologie du tétanos dans l'infection naturelle se pose dès lors comme un problème complexe, et l'on entrevoit que la réalisation de la maladie doit être subordonnée à la mise en œuvre simultanée de plusieurs facteurs pathogéniques : d'abord du germe spécifique, ensuite des agents propres à faciliter sa culture. L'exemple ci-dessus démontre précisément qu'une terre tétanigène comporte en elle un de ces derniers, et que la chaleur le détruit. Quel est ce facteur inconnu ? N'en existe-t-il point d'autres ? C'est ce que pourra établir l'étude méthodique des conditions habituelles dans lesquelles le tétanos apparaît.

Le tétanos de l'homme et des animaux s'observe, en général, à la suite d'un traumatisme avec plaie. Il a pour cause la souillure de celle-ci par des parcelles de terre, de fumier, des poussières, ou encore l'implantation dans les tissus de corps étrangers divers (éclats de bois, de verre, de métal, de pierre),

1. Nous devons cette terre à l'extrême obligeance de M. le Dr Peyraud (de Libourne).

ayant été en contact direct ou indirect avec le sol; quelquefois la contamination est due à des instruments souillés par les matières empruntées à une plaie. Dans les circonstances qui préparent et provoquent le tétanos, on reconnaît donc plusieurs faits contemporains: le traumatisme qui ouvre la brèche par où le virus s'insinue; l'introduction de corps étrangers variés servant presque toujours de support à l'agent pathogène; enfin la pénétration simultanée dans la plaie des spores tétaniques et des microbes qui les accompagnent fatalement dans le sol, les poussières ou tel autre produit infectant. Quel est celui de ces facteurs qui agit pour favoriser la germination des spores pathogènes?

A. — *Le traumatisme.*

Le traumatisme se borne-t-il à ouvrir l'accès au virus, ou bien intervient-il aussi en créant la condition propice à sa culture?

Jusqu'ici les spores ont été injectées dans un tissu *sain*. La raison pour laquelle elles ne provoquent pas alors le tétanos autorise à croire que le résultat de l'inoculation deviendrait peut-être différent si ces mêmes spores pénétraient dans un tissu dont la vitalité est défavorablement modifiée. Cette vue concorde avec des faits établis. MM. Nocard et E. Roux ont démontré, par un exemple saisissant, l'influence de la simple altération des tissus sur l'évolution ultérieure d'un microbe pathogène: la contusion d'un muscle, précédant l'inoculation en ce point du virus du charbon symptomatique, leur a permis de donner au lapin une maladie à laquelle cet animal est naturellement réfractaire. Appliquant cette donnée au tétanos, l'un de nous a provoqué la maladie chez le cobaye avec une dose faible de spores sans toxine, injectées dans un muscle préalablement contus. Les tissus altérés se prêtent donc mieux que les tissus sains à la germination des spores. Le traumatisme qui intéresse à un degré variable la vitalité des régions atteintes ne réaliserait-il pas, de ce fait, une condition favorable à la culture du virus?

Il est facile de le rechercher en réduisant le problème à des données très simples. Chez les animaux, cobayes ou lapins¹, on

1. Les recherches ont été faites principalement sur le cobaye; en raison de sa réceptivité pour le tétanos, il est, en effet, un réactif d'une très grande sensibilité.

reproduit les principales variétés de trauma (plaies de diverse nature, fracture) qui précèdent l'apparition du tétanos chez l'homme, puis on inocule dans les tissus ainsi altérés des spores tétaniques pures, sans toxine; des résultats obtenus doit ressortir la part attribuable au facteur mis en cause. Mais pour que l'épreuve devienne concluante, il importe d'éliminer de l'expérience tout agent autre que le traumatisme lui-même. Les blessures ne devront donc recevoir qu'une seule espèce de germe : la spore tétanique. Les plaies, les fractures seront faites aseptiquement et, après l'infection expérimentale, fermées d'une manière absolue à l'accès des microbes étrangers; faute de quoi les résultats perdraient toute valeur.

Plaies simples, régulières. — Les plaies simples, superficielles, régulières, ne paraissent pas réaliser des conditions propices à la germination des spores tétaniques.

A des cobayes, après avoir dénudé une partie de la région dorsale par une application de sulfure de calcium, on enlève, avec des ciseaux flambés, un lambeau de peau de 1 centimètre de diamètre environ; suivant les cas on met ainsi à nu, soit la partie profonde du derme, soit le tissu conjonctif sous-cutané. Ces plaies sont infectées avec 2 ou 5 gouttes d'une culture chauffée à 80°, puis recouvertes d'un papier épais stérilisé qui est maintenu en place par une carapace de collodion. Les animaux ainsi mis en expérience n'ont présenté aucun symptôme tétanique.

Plaies anfractueuses. — Les plaies simples, avec décollement des tissus, ne donnent pas des résultats différents.

Un lambeau de peau est excisé sur la région dorsale d'un cobaye. Il en résulte une plaie circulaire de 1 centimètre de diamètre, découvrant le tissu cellulaire sous-cutané. Après en avoir décollé tout le circuit sur une étendue de 6 millimètres environ, on y instille, tant à la surface que sous les parties décollées, deux gouttes d'une culture chauffée à 80°. La plaie est recouverte d'une bande de papier Chardin stérile, puis obturée par une épaisse couche de collodion. Le tétanos ne s'est point produit.

Avec un bistouri à lame étroite et longue introduit purement

sous la peau du ventre d'un cobaye, on dilacère le tissu cellulaire et le plan musculaire sous-jacent sur une étendue de deux centimètres environ. Immédiatement après on injecte en ce point 1/15^{cc} d'une culture chauffée à 80°. L'animal n'est pas devenu tétanique.

Nécrose des tissus. — Épanchements sanguins. — Dans les tissus mortifiés, les spores rencontrent des conditions favorables à leur culture.

Au-dessous d'une eschare produite par brûlure de la peau de la cuisse, on injecte 1/15^{cc} d'une culture chauffée à 80°. Trois jours après le tétanos débute et l'animal meurt en 48 heures. La brûlure avait intéressé toute l'épaisseur de la peau et une couche très mince des muscles sous-jacents. L'examen de la zone nécrosée montre une proportion assez abondante de bâtonnets résultant de la végétation des germes; les leucocytes y étaient rares, mais quelques-uns avaient englobé des spores.

Le sang épanché constitue encore un milieu propice au développement des spores.

En inoculant dans le péritoine d'un cobaye en gestation une dose de culture chauffée insuffisante pour provoquer le tétanos, on fait, par maladresse, pénétrer une partie de l'injection dans l'épaisseur du placenta. L'animal meurt rapidement tétanique. Le délivre était transformé en un vaste foyer hémorragique où se trouvaient, à côté de spores libres, des bacilles tétaniques filamenteux.

L'attrition d'un muscle réalise simultanément la mortification des fibres et une infiltration hémorragique : aussi les spores germent-elles facilement lorsqu'elles sont introduites dans ce foyer : il a été dit dans un travail antérieur qu'il suffisait d'injecter une petite quantité de spores dans un muscle fortement contus pour produire le tétanos chez le cobaye.

Fractures sous-cutanées. — Les fractures compliquées de plaie comptent fréquemment parmi les causes qui provoquent le tétanos. Chez les animaux, le cobaye du moins, les fractures sous-cutanées les plus simples créent une circonstance très favorable à la culture des spores tétaniques.

Il est facile, chez le cobaye, par la seule pression des doigts

s'exerçant en sens inverse, de produire au tiers inférieur de la jambe une fracture nette et sans plaie des téguments. Aussitôt que la rupture est faite on injecte au point même où les os sont disjoints une goutte d'une culture chauffée à 80°. Le tétanos apparaît du 3^e au 4^e jour; il débute par le membre traumatisé, et se termine par la mort en 15 ou 20 heures. L'examen du membre ne montre que des lésions minimes au voisinage de la fracture : hyperémie, léger œdème et quelques suffusions sanguines. Les leucocytes sont d'une rareté remarquable et aucun d'eux ne renferme de spores. Dans la moelle osseuse de l'un des fragments, ou dans les tissus qui entourent les os, on trouve, quelquefois en abondance, les formes mycéliennes du bacille tétanique.

Chez le lapin, le même traumatisme n'a pas donné des résultats semblables. L'infection du foyer d'une fracture sous-cutanée du péroné par une quantité de spores plus grande que précédemment n'a pas été suivie de tétanos. Mais il n'en est plus de même lorsque la fracture se complique d'une plaie du tégument faisant communiquer le foyer avec l'extérieur.

De ces faits, qu'il eût convenu sans doute de varier d'avantage, se dégagent néanmoins quelques notions utiles. Les traumatismes qui déterminent une mortification des tissus, un épanchement de sang collecté ou diffus, créent, chez le cobaye, des conditions favorables par elles seules à la végétation des spores. Les fractures simples, non ouvertes, agissent dans le même sens; mais pour le lapin il n'en a pas été ainsi, ce qui semble indiquer que l'efficacité de ces facteurs peut varier avec les espèces animales. Dans les circonstances ci-dessus indiquées, le mécanisme de l'action favorisante a paru résider dans un obstacle, momentané ou durable, à l'arrivée des leucocytes sur le point infecté : ils étaient rares, en effet, sous les eschares, plus rares encore dans les foyers de fracture, et absents dans les foyers hémorragiques.

Les plaies régulières ou anfractueuses, ne s'accompagnant pas de mortification des tissus et d'infiltration hémorragique notable, ne réalisent pas chez le cobaye les conditions adéquates à la culture des spores. Et cependant c'est à la suite de plaies semblables ou plus minimes, insignifiantes même tant elles sont limitées et peu profondes, que le tétanos est très souvent observé

chez l'homme; alors, il est vrai, interviennent des conditions d'un ordre différent.

B. — *Les corps étrangers.*

Parmi les circonstances étiologiques du tétanos, on relate fréquemment l'introduction dans les plaies ou la profondeur des tissus de corps étrangers de nature diverse. Les uns sont pulvérulents et de faible importance, comme les parcelles de terre, les débris de paille, de fumier, etc.; les autres, méritant mieux le nom de corps étrangers, peuvent être plus ou moins volumineux, tels que les éclats ou les fragments de bois, de pierre, de métal, etc. Tous sont apparemment les supports de l'agent pathogène qu'ils importent dans les tissus. Il convenait donc de rechercher si leur présence, par l'irritation qu'elle entraîne, favorise à un degré quelconque la culture des spores tétaniques.

L'introduction simultanée, dans les tissus du cobaye, de corps étrangers pulvérulents et de spores chauffées, n'a point provoqué le tétanos. Ainsi à $1/8$, $1/4$, $1/3$ de c. c. d'une culture tétanique chauffée à 80° , on ajoute une petite quantité de sable stérile et on injecte le tout, au moyen d'une canule appropriée, sous la peau du ventre de trois cobayes; aucun d'eux n'a présenté de symptômes tétaniques. — Une plaie du dos intéressant toute l'épaisseur de la peau jusqu'au tissu conjonctif est saupoudrée de verre pilé supportant des spores préalablement chauffées à 80° ; cette plaie est ensuite oblitérée par l'application d'une bande de papier stérile et d'une couche de collodion. Ce cobaye n'est point devenu tétanique.

Plusieurs animaux ont été infectés avec des fragments de pierre ou de bois portant des spores à leur surface. A cet effet, sur des éclats de silex et des échardes de bois préalablement stérilisés, on fixait par dessiccation une ou deux gouttelettes de culture tétanique chauffée à 80° . Ces corps étrangers étaient ensuite introduits sous la peau du ventre des cobayes. L'expérience a porté sur douze animaux: les uns recevaient un fragment de bois, les autres un seul éclat de silex du volume d'une lentille, d'autres enfin deux et trois débris de même nature, mais plus petits. La plaie nécessaire pour cette insertion était

faite avec toute la pureté possible, suturée très exactement, puis oblitérée avec du collodion.

De ces cobayes, huit n'ont pas pris le tétanos et restent encore en bonne santé : la présence du ou des corps étrangers sous la peau n'a donné lieu à aucune réaction appréciable. Quatre cobayes parmi ceux qui avaient été inoculés avec un fragment volumineux de silex, sont devenus tétaniques du cinquième au huitième jour; ils ont succombé. Chez trois d'entre eux, la carapace de collodion et les sutures avaient cédé pendant la nuit qui a suivi l'inoculation, ouvrant ainsi la plaie aux souillures extérieures. A l'autopsie, la cavité qui logeait le corps étranger présentait des parois épaisses, bourgeonnantes ou d'aspect fongueux; *toujours* l'examen microscopique et les cultures y ont montré des microbes d'impureté. Dans ces cas, le facteur corps étranger n'était pas resté seul en cause, et l'expérience avait ainsi perdu son caractère essentiel de simplicité. Il sera établi plus loin que l'intervention des microbes étrangers ne permet pas d'attacher à ces résultats une signification précise au point de vue de la question à résoudre.

Chez les lapins, l'insertion sous la peau des corps étrangers précédents n'a jamais donné lieu au tétanos.

Retenant les faits où l'inoculation n'a pas été suivie de tétanos, on est autorisé à dire : lorsque des corps étrangers (bois ou pierre), enduits de spores *pures*, sont introduits *purement dans une plaie aseptique et maintenue telle*, l'action qu'ils peuvent alors exercer sur les tissus n'est pas suffisante pour faciliter la végétation des germes; ceux-ci n'étant protégés par rien contre les leucocytes, sont englobés et immobilisés¹.

Il importe d'insister sur ce fait que les corps étrangers enduits de spores ne restent inoffensifs que s'ils sont placés dans une plaie pure et demeurant telle par la suite. Or cette condition n'est pas aussi facile à réaliser qu'on le suppose, du moins chez le cobaye. Si pour préparer la région qui sera inoculée, on se borne à couper les poils aussi ras que possible, il

1. Ces expériences servent de contre-épreuve à celles où les animaux étaient infectés avec des sporés entourées d'une enveloppe de papier. Pour les deux cas le traumatisme a été le même, le volume des corps étrangers sensiblement égal; mais tandis que, dans l'un, les spores étaient protégées contre l'action des phagocytes, dans le second cette condition n'existait plus : de là les différences dans les résultats des deux modes d'inoculation.

arrive presque fatalement que des débris de ces derniers s'insinuent dans la plaie, soit pendant l'opération, soit surtout à l'occasion et par le fait de la suture; malgré le lavage préalable de la peau au sublimé, cet incident peut suffire pour contaminer la plaie. Afin de l'éviter, nous avons eu recours à l'épilation de la région par une application de sulfure de calcium. D'autre part, pour exacte qu'elle paraisse, la suture ne ferme pas toujours rigoureusement la plaie aux souillures extérieures, et il devient nécessaire, après l'avoir effectuée, de pratiquer l'occlusion complète au moyen de plusieurs couches de collodion. Il n'est pas moins indispensable de veiller ensuite au maintien de cet appareil protecteur.

A la condition de négliger toutes les précautions, il est aisé de donner le tétanos aux animaux avec des corps étrangers qui n'ont cependant rien de bien irritant par eux-mêmes. Chez les cobayes, par exemple, on introduit dans un décollement de la peau un très petit tampon de ouate stérile, imbibé d'une goutte ou deux d'une culture tétanique chauffée. La plaie est laissée ouverte ou imparfaitement affrontée par un point de suture. Dans ces conditions, le tétanos est constant, même lorsque le bourdonnet n'est resté en place que quelques heures. A l'autopsie, la logette qui recevait le corps étranger est le siège de lésions très appréciables; ses parois sont épaisses, hypérémies, bourgeonnantes, souvent aussi elle contient une sérosité hématique ou purulente. Toujours on y rencontre des microbes divers qui ont provoqué les lésions précédentes. Les plaies étaient pures à l'origine; elles se sont infectées ultérieurement. De cette pénétration des microbes étrangers résultent des conditions nouvelles, éminemment propres à favoriser la germination des spores tétaniques, comme il reste à le démontrer. Ainsi s'expliquera pourquoi, dans leurs recherches sur le tétanos, MM. Brieger, Kitasato et Wassermann pouvaient facilement provoquer la maladie en introduisant sous la peau des souris (sans précautions d'asepsie sans doute) des fragments de bois imprégnés de spores chauffées à 80°.

C. — *Les associations microbiennes.*

L'inoculation d'un fragment de terre tétanigène sous la peau des animaux, cobayes ou lapins, détermine toujours des lésions

locales qui, très appréciables déjà après vingt-quatre heures, s'accroissent encore par la suite. La région se tuméfie, devient empâtée et douloureuse sur une étendue de un ou plusieurs centimètres; puis le tétanos apparaît du troisième au quatrième jour et se termine par la mort en 24 ou 48 heures. Les altérations que l'on constate à l'autopsie varient d'aspect : tantôt c'est un foyer purulent ou puriforme, tantôt une sorte d'eschare jaunâtre et sèche, parfois enfin un exsudat membraneux, épais et cohérent; les tissus voisins sont souvent le siège d'une infiltration œdémateuse. De même l'inoculation des produits recueillis dans la plaie d'un tétanique détermine des lésions qui ne diffèrent guère des précédentes. Ces altérations sont tellement constantes qu'elles paraissent être une condition pathogénique essentielle du tétanos; de leur présence ou de leur absence dans les jours qui suivent l'inoculation on peut pronostiquer l'issue de celle-ci.

L'examen microscopique du pus ou de l'exsudat contenus dans ce foyer, montre toujours, outre le bacille tétanique, une profusion de microbes très différents, parmi lesquels on distingue une et parfois deux espèces dominantes. Étant donné que le bacille tétanique ne provoque jamais de lésions semblables, il est certain que celles-ci ont été produites par les autres microbes rencontrés dans la plaie. Comme, par ailleurs, les spores ne peuvent germer lorsqu'elles sont seules, il est naturel de penser que ces microbes importés avec la terre ou le pus inoculés ont, grâce aux altérations qu'ils engendrent, réalisé la condition nécessaire à la culture du germe spécifique. Cette idée que l'un de nous a déjà émise avait été exprimée, à son insu, par MM. Verhoogen et Baert dans un mémoire ayant pour titre : *Premières recherches sur l'étiologie du tétanos*¹; nous nous plaisons à le reconnaître : mais il convient d'ajouter que ces auteurs n'ont fourni à aucun moment la preuve expérimentale de leur hypothèse. Cette preuve découlera sans doute de l'exposé ci-dessous.

Une terre est sûrement tétanigène; inoculée aux animaux, elle provoque *toujours* le tétanos. Si on la chauffe à une température, qui, sans amoindrir la vitalité des spores tétaniques,

1. VERHOOGEN et BAERT. — Bruxelles, 1890, p. 82.

suffit cependant à détruire la plupart des autres microbes, ou à les affaiblir assez pour les rendre inactifs, elle perd sa virulence. Mais si à cette terre devenue inactive on restitue certaines espèces microbiennes qu'elle contenait auparavant (abstraction faite du bacille tétanique), on lui restitue du même coup son pouvoir tétanigène. Telle est l'expérience suivante parmi d'autres du même genre.

Dans la terre susdite on prélève, au même point, deux lots de même volume que l'on humecte avec une égale quantité d'eau stérile. Le premier est laissé en l'état et servira à inoculer les animaux témoins. Le second est chauffé pendant une heure à 85°. Une partie en est inoculée telle quelle. L'autre, avant l'inoculation, est imprégnée avec une culture en bouillon des microbes aérobies extraits de la terre non chauffée; cette culture ne renferme pas le bacille tétanique : injectée aux cobayes, elle provoque des lésions locales très marquées, mais jamais le tétanos.

Le même jour, à trois lots de cobayes de même poids, on insère sous la peau du ventre un volume égal des trois échantillons de terre préparés comme il a été dit. Les plaies sont suturées exactement, recouvertes de collodion, et les animaux sont répartis dans des cages qui n'ont jamais servi à des expériences sur le tétanos.

Trois cobayes reçoivent la terre *non chauffée* : tous présentent ultérieurement une grosse lésion locale et meurent tétaniques du 5^e au 6^e jour.

Trois cobayes reçoivent la terre *chauffée* : tous restent par la suite en bonne santé; au point inoculé il ne se produit aucune réaction appréciable.

Enfin deux cobayes sont inoculés avec la terre *chauffée, mais additionnée de la culture des microbes aérobies* : tous deux deviennent tétaniques et meurent dans les mêmes délais que les premiers après avoir montré une lésion locale identique.

A l'autopsie, que les animaux aient été infectés avec la terre non chauffée ou avec la terre chauffée, puis additionnée de microbes, on trouve exactement les mêmes altérations.

Ces résultats parlent d'eux-mêmes. Si la terre chauffée à 85° cesse d'être virulente, la cause n'en est pas que les spores tétaniques ont été ou détruites, ou altérées, puisque cette terre rede-

vient tétanigène dès qu'on la fait agir dans certaines conditions. L'explication est ailleurs ; elle réside dans ce fait que la chaleur, en respectant les germes spécifiques, a éliminé la plupart des autres microbes, et supprimé l'activité pathogène de ceux qui ont résisté ; les cultures établissent que la proportion des germes revivifiâbles est minime dans cette terre soumise au chauffage. C'est bien, en effet, parce que les microbes adventices ont fait défaut, que la terre chauffée s'est montrée incapable de produire une lésion locale et le tétanos, puisqu'il a suffi de restituer ces microbes à la terre inactive pour lui rendre aussitôt sa virulence primitive. De là cette conclusion : dans la pathogénie du tétanos consécutif à l'inoculation de la terre, les bactéries que celle-ci renferme, en outre de l'agent spécifique, jouent un rôle de premier ordre. Ces bactéries produisent des lésions constantes à la faveur desquelles les spores tétaniques peuvent végéter ; leur concours est indispensable, et lorsqu'il vient à faire défaut, les spores ne germent pas, le tétanos ne se produit point.

Tous ces détails s'appliquent exactement au pus recueilli dans la plaie d'un homme tétanique, ou dans celle des animaux qui succombent à une inoculation de terre. Déposé sous la peau du cobaye, ce pus provoque une maladie rapidement mortelle ; mais après un chauffage de 10 ou 15 minutes à 70°, 68°, il devient inactif, même à dose double. Ici encore il est facile d'établir quel est cet élément indispensable à la pathogénie du tétanos que la chaleur a fait disparaître. Ce n'est pas le bacille spécifique : l'ensemencement d'une quantité de ce pus chauffé égale à celle qui a été inoculée, en donne une culture très toxique. Ce qui a été éliminé, ce sont les bactéries qui végétaient avec lui et plus que lui dans la plaie de l'homme ou de l'animal. Si en effet, par des cultures en gélatine, à l'air et à l'abri de l'air, on cherche à déterminer la teneur en microbes de ce pus avant et après le chauffage, on est frappé de la constance des résultats. La quantitéensemencée restant identique, le pus avant le chauffage donne toujours un nombre considérable de colonies, presque toutes formées par des microbes différents de celui du tétanos ; après le chauffage, il n'en fournit habituellement aucune, sauf celles qui sont dues au bacille tétanique. Entre le pus chauffé et le pus non chauffé il existe donc une différence et elle est capitale. Le premier ne contient que le bacille tétanique : il n'est

pas virulent et ne détermine pas de lésion locale. Le second est tétanigène : outre le bacille tétanique, il renferme une foule de microbes divers. C'est donc parce que ceux-ci ont disparu que le pus chauffé ne provoque plus de lésion locale, et que, par suite, les germes spécifiques ne peuvent végéter.

Ces faits marquent déjà d'un trait significatif le rôle des associations microbiennes dans la pathogénie du tétanos; mais la démonstration n'est pas encore achevée.

Si la végétation des spores tétaniques dans une plaie est réellement subordonnée à l'intervention de certaines bactéries, il en résultera le fait suivant : la plaie des sujets tétaniques, homme ou animal, doit toujours contenir des microbes dont l'action favorise la culture des spores dans les tissus; par suite, l'association de ces microbes à une *très faible quantité de germes sans toxine* permettra facilement de provoquer le tétanos chez les animaux. C'est ce qui arrive.

L'examen microscopique des produits recueillis dans la plaie d'un tétanique y montre toujours une profusion de microbes appartenant à des espèces différentes; les unes ne comptent que de rares représentants, les autres, au contraire, prédominent d'une manière marquée. Les cultures établissent de même la diversité des espèces bactériennes et l'abondance particulière de l'une ou l'autre d'entre elles. Habituellement ce sont les aérobies qui l'emportent, ou, plus exactement, les microbes cultivables indifféremment à l'air et à l'abri de l'air; dans un seul cas, les anaérobies étaient presque seuls en cause.

L'isolement de chacune de ces espèces est possible. Après les avoir obtenues en culture pure, il est aisé de rechercher si elles ont pu intervenir dans la pathogénie du tétanos auquel l'homme ou l'animal ont succombé. Pour cela on associe à la culture de chacun de ces microbes une dose très faible, 1/40, 1/60, 1/100 de c. c. d'une culture tétanique chauffée à 80°, et on injecte le mélange sous la peau des cobayes. Si, parmi les inoculés, il s'en trouve qui deviennent tétaniques, il y aura lieu d'admettre que le microbe que l'on a fait agir sur ces animaux a réellement favorisé la végétation des spores; sans un tel secours celles-ci n'eussent pu déterminer la maladie. Si enfin, opérant dans les mêmes conditions avec les cultures successives du microbe qui s'est montré favorisant, on obtient toujours le

même résultat, la preuve sera faite du rôle que le microbe a joué dans la réalisation de la maladie chez l'homme ou l'animal. En procédant ainsi on trouve *constamment*, dans la plaie des tétaniques, telle ou telle bactérie qui, jointe à une faible dose de spores chauffées à 80°, permet de donner sûrement le tétanos au cobaye. Inoculée seule, la culture de cette bactérie ne détermine pas la maladie; agissant seules, les spores tétaniques ne donnent pas le tétanos; l'association de la première aux secondes suffit pour le provoquer. Ce microbe reconnu favorisant représente généralement l'espèce dont le microscope et les cultures ont indiqué la prédominance; c'est aussi celui qui, introduit seul sous la peau des animaux, engendre des lésions constantes, identiques à celles que l'on a observées à l'autopsie du tétanique, objet des recherches.

Cette investigation a été faite dans trois cas de tétanos humain et de nombreux cas de tétanos expérimental; toujours les résultats ont été ceux qui viennent d'être indiqués.

A. — *Tétanos humain.*

1° *Tétanos consécutif à une fracture comminutive de la jambe avec issue des fragments.* — Le pus recueilli au foyer de la fracture est très riche en microbes divers, parmi lesquels dominent les formes bacillaires. Cinq espèces distinctes sont isolées par des ensemencements à l'air et dans le vide. Leur culture pure est associée à des spores tétaniques, puis injectée sous la peau de cinq cobayes. Un seul de ces animaux prend le tétanos et meurt, présentant une énorme lésion qui occupe presque toute la région thoraco-abdominale. Cette lésion est caractérisée par un exsudat membraneux, épais, jaunâtre, entouré à sa périphérie d'une large zone œdémateuse.

Le microbe dont l'association avec les spores a provoqué le tétanos est un bacille strictement anaérobie. Sa culture pure n'est pas tétanigène. Injectée seule sous la peau, à la dose de 0^{cc},3, elle détermine toujours les altérations ci-dessus décrites; additionnée de 1/60^{cc} d'une culture tétanique chauffée à 80°, elle produit le tétanos chez tous les inoculés.

2^o *Tétanos consécutif à une plaie contuse d'un orteil.* — L'eschare qui recouvrait la plaie a été détachée pendant la vie : une partie est inoculée à un lapin qui meurt tétanique, l'autre sert à l'isolement des microbes.

Par les cultures à l'air et à l'abri de l'air, on isole, outre le bacille tétanique, cinq espèces de microbes : deux microcoques et trois bacilles, tous se cultivant à l'air et dans le vide. Un de ces bacilles est chromogène; sa culture est fluorescente. Après avoir vérifié que les cultures pures de ces divers microbes ne sont pas tétanigènes, on associe une dose égale de chacune d'elles (0^{cc},3) à une petite quantité de spores chauffées (1/60^{cc} de culture), puis on injecte ces mélanges sous la peau de cinq cobayes. Un seul de ces animaux, celui qui avait reçu le mélange des spores avec le bacille chromogène, devient tétanique et meurt. La région inoculée est épaissie, indurée sur l'étendue d'une pièce de 5 francs; au-dessous de la peau existe une large pseudo-membrane jaunâtre, épaisse, entourée par un œdème rosé qui infiltre tout le tissu cellulaire de la paroi abdominale. Les cultures pures de ce bacille fluorescent déterminent toujours des lésions identiques lorsqu'on les inocule au cobaye, à la dose de 0^{cc},2, ou 0^{cc},3; elles peuvent même entraîner la mort. Additionnées de spores tétaniques, elles ont toujours provoqué le tétanos dans les essais ultérieurs.

3^o *Tétanos consécutif à une plaie contuse par écrasement de l'extrémité unguéale du petit doigt*¹. — Le doigt traumatisé a été amputé aussitôt après l'entrée du malade à l'hôpital. La lésion résultant de l'écrasement est insignifiante : l'ongle est décollé à sa base et légèrement soulevé; son lit et sa matrice sont tuméfiés modérément, ecchymosés et recouverts d'une petite quantité de liquide sanieux.

Une partie de la matrice de l'ongle est insérée sous la peau d'un cobaye qui meurt tétanique en trois jours; l'autre est utilisée pour l'examen microscopique et les cultures.

Le microscope montre exclusivement deux formes microbiennes bien distinctes : un bâtonnet mince, assez abondant,

1. L'observation de ce malade a été rapportée par M. Rénon dans ces Annales (avril 1892).

parfois disposé en petits groupes (bacille tétanique, sans renflement); un microcoque en grains isolés ou par amas.

Les cultures à l'air et dans le vide ne donnent également que deux espèces de microbes : le bacille tétanique et le microcoque ci-dessus.

A 0^{cc},3 d'une culture à l'air de ce microcoque, on ajoute une faible dose de spores chauffées (1/60^{cc}), et on injecte le mélange sous la peau d'un cobaye. Dès le deuxième jour, l'animal est pris de tétanos et meurt en moins de 24 heures. A la région infectée existe un vaste foyer purulent semblable à celui que présentait le cobaye inoculé avec le fragment de la matrice unguéale. Injectées seules, les cultures de ce microcoque reproduisent la même lésion ; associées aux spores, elles provoquent toujours le tétanos.

Ainsi dans les trois cas de tétanos humain dont l'étude nous a été possible, la plaie provocatrice contenait des microbes différents, qui agissaient d'une manière certaine chez l'animal pour produire des lésions locales, et favoriser en ce point la germination des spores tétaniques.

B. — *Tétanos expérimental.*

Des recherches du même ordre ont été effectuées sur six cobayes rendus tétaniques par l'inoculation de la terre; les résultats ont été conformes à ceux qui précèdent, et, pour ne pas entrer dans le détail de faits qui n'auraient d'autre intérêt que leur constante uniformité, nous nous bornerons à en donner le résumé succinct.

Les lésions rencontrées chez ces animaux différaient avec la provenance de la terre, et aussi avec les parcelles de la même terre. Au siège des altérations, les espèces microbiennes étaient nombreuses; les cultures en ont montré jusqu'à dix et quatorze. Mais toutes n'y avaient pas végété à un égal degré : la plupart étaient clairsemées, ou seulement figurées par quelques représentants; une, et quelquefois deux espèces dominaient, indiquant ainsi la part prépondérante qu'elles avaient eue dans la pathogénie de la lésion locale.

Obtenir en culture pure tous les individus de cette flore si

variée, n'est pas sans difficulté. Quand on y est parvenu, on constate que, parmi ces microbes, il en est toujours qui déterminent chez les cobayes des lésions très caractérisées, et qui, associés aux spores tétaniques, permettent la végétation de ces dernières. Les bactéries favorisantes n'étaient pas les mêmes dans les six faits étudiés. Quatre fois il s'agissait de bacilles aérobies, distincts par leur morphologie et les caractères de leur culture. Une fois, il s'agissait d'un coccus. Le sixième cas est particulièrement intéressant, car il montre de quelles éventualités peut parfois dépendre la pathogénie du tétanos.

Des microbes nombreux avaient été isolés de la plaie d'un cobaye. La culture pure de chacun d'eux, associée aux spores, ne provoquait jamais le tétanos. Une seule culture avait ce pouvoir; or elle était mélangée et comportait à la fois un bacille et un microcoque aérobies. Ces deux microbes ont été séparés. Injecté isolément, aucun ne déterminait de lésion locale; de même, l'association de l'un ou de l'autre à des spores tétaniques était inapte à favoriser la végétation de ces germes. Mais l'accouplement des deux microbes, par le mélange des cultures, produisait une grosse altération des tissus au point inoculé, et ce même mélange additionné de spores provoquait sûrement le tétanos. L'expérience a été répétée plusieurs fois et toujours avec le même résultat. De là il ressort que dans les recherches de ce genre, il importe non seulement d'étudier l'action séparée de chacun des microbes extraits de la plaie, mais encore, en cas d'insuccès, de les faire agir deux à deux ou même simultanément : là où une seule espèce de bactérie ne suffira pas à réaliser les conditions nécessaires au développement des spores, l'intervention simultanée de deux ou plusieurs espèces donnera ce résultat. Si le hasard ne nous avait servis en cette circonstance, l'existence des microbes favorisants serait restée méconnue dans ce cas de tétanos, et nous eussions été conduits à une conclusion erronée. En fournissant un exemple du rôle que peuvent jouer les associations microbiennes dans la pathogénie de certaines lésions, ce fait indique encore que la nocuité ou l'innocuité des spores introduites dans une plaie se trouve soumise à des hasards difficiles à soupçonner : si l'un ou l'autre des microbes dont l'accouplement a favorisé la culture du germe spécifique avait fait défaut dans le fragment de terre

inoculé, celui-ci, sans doute, n'eût pas provoqué le tétanos¹.

Il a été dit précédemment que l'infection d'une plaie avec une quantité de spores incapable par elle seule de provoquer le tétanos, donnait lieu à la maladie lorsque cette plaie restait ouverte aux souillures extérieures. Mention a été faite aussi de tétanos survenus après l'introduction sous la peau de corps étrangers enduits de spores pures. Dans *tous ces cas* les plaies d'inoculation étaient le siège de lésions plus ou moins marquées, et toujours on y a constaté la présence de microbes divers. Parmi ces microbes il s'en est aussi toujours trouvé qui, associés à des spores, déterminaient chez les cobayes une lésion locale et le tétanos; leur pénétration dans les plaies avait donc facilité la végétation des germes spécifiques.

De même dans le fait suivant :

Une fracture double des os de la jambe étant produite chez un lapin, on injecte à son foyer 0^{cc},2 d'une culture tétanique chauffée à 80°. Le lendemain une petite ulcération se forme au voisinage de la fracture et laisse écouler une sérosité sanguinolente. Au septième jour, l'animal devient tétanique et meurt en 48 heures. Sous la peau, au niveau de l'ulcération constatée pendant la vie, existe un exsudat jaunâtre, puriforme, se prolongeant jusqu'au foyer de la fracture. Celle-ci est déjà consolidée par un large anneau cartilagineux qui circonscrit une cavité recouverte d'un enduit jaune et friable. L'exsudat puriforme, superficiel ou profond, est formé de leucocytes polynucléaires dont quelques-uns, très rares, renferment une spore; on y trouve

1. Parmi les microbes favorisants contenus dans la terre, il en est qui peuvent former des germes résistants à la chaleur.

Une terre d'une virulence certaine est chauffée une heure à 80°, puis inoculée simultanément à quatre cobayes. Un de ces animaux meurt tétanique. Dans sa plaie existait, en outre du bacille spécifique, un seul microbe : un bacille aérobie formant des germes qui résistaient une heure à la température de 80°, mais qu'un chauffage de même durée à 85° tuait sûrement. Les cultures de ce bacille associées à des spores tétaniques ont provoqué une lésion locale et le tétanos. Ces détails expliquent pourquoi ce cobaye a pris le tétanos, tandis que les autres sont restés indemnes : le fragment de terre qu'il avait reçu contenait les germes de ce bacille favorisant, les autres renfermaient des microbes plus fragiles. En confirmant une fois de plus le rôle pathogénique de certaines bactéries, ce fait démontre aussi que, suivant la nature des microbes favorisants qu'elle contient, une terre tétanigène pourra être ou n'être pas rendue inactive par tel ou tel chauffage. Celle qui a été utilisée pour ces recherches cessait d'être virulente après un chauffage de une heure à 85°. Mais d'autres terres peuvent comporter des microbes favorisants, dont les germes ne seront pas influencés par cette température.

en outre, des microcoques et des bacilles divers. Un des microcoques isolés par les cultures favorisait la germination des spores tétaniques. Chez un autre lapin, les spores n'avaient pas cultivé au foyer d'une fracture simple; elles y étaient restées pures. Ici la fracture se complique de plaie, une porte est ouverte aux microbes d'impuretés et le tétanos survient.

Dans les faits de ce dernier groupe, où le tétanos est imputable à la souillure accidentelle d'une plaie primitivement pure, les microbes favorisants différaient d'un cas à l'autre. Le plus souvent ils étaient représentés par des coccus, staphylocoques ou streptocoques; mais une fois, chez le cobaye, nous avons rencontré le bacille fluorescent signalé à propos d'un cas de tétanos humain.

Résumant l'exposé qui précède, on peut dire : dans le tétanos spontané de l'homme, comme dans le tétanos déterminé chez les animaux par des procédés analogues à ceux de l'infection naturelle, la plaie provocatrice contient toujours des microbes multiples; et, toujours, parmi ces microbes, il en est qui, associés à une quantité insignifiante de spores sans toxine, produisent le tétanos chez les inoculés. Cette constatation emprunte une grande valeur à son rapprochement avec la donnée suivante, antérieurement établie : les spores prises dans le sol, la plaie d'un tétanique ou les cultures, ne végètent pas dans les tissus lorsqu'elles y pénètrent à l'état de pureté. Mais ces mêmes spores germent à coup sûr si on les fait agir concurremment avec certains microbes; c'est donc que ceux-ci réalisent dans les tissus les conditions nécessaires à la culture du virus. Or, comme ces microbes proviennent précisément de la plaie des tétaniques, on est fondé à croire qu'ils y ont joué le même rôle, c'est-à-dire réalisé les conditions indispensables à la culture de l'agent pathogène.

Ainsi se trouve confirmée la part prépondérante des associations microbiennes dans la pathogénie de l'infection tétanique. C'est parce que certaines bactéries s'introduisent dans une plaie avec les spores que celles-ci peuvent germer, sécréter le poison et produire l'intoxication. L'action de ces microbes auxiliaires est tellement efficace qu'il n'est même pas besoin d'un traumatisme préalable pour que le virus cultive chez l'ani-

mal : l'injection sous la peau, avec une fine aiguille, du mélange des spores et de ces microbes suffit à cet égard. Et combien leur action doit être facilitée lorsque l'apport se fait dans des tissus gravement traumatisés !

La diversité des microbes favorisants signalés au cours de ce travail n'implique pas que *toutes* les bactéries puissent agir à ce titre. C'est seulement le propre de quelques-unes : lorsqu'on mélange avec une faible quantité de spores chacune des espèces qui ont été extraites d'une plaie, le tétanos ne survient que par le fait d'une association déterminée, les autres restant sans effet. Seuls, les microbes capables de produire des lésions caractérisées au point où on les injecte ont pu faciliter la végétation des germes spécifiques. La plupart exerçaient aussi bien cette action sur le cobaye que sur le lapin ; les autres provoquaient le tétanos chez le cobaye, mais non chez le lapin : tandis que les premiers étaient pathogènes, du moins localement, pour ces deux animaux, les seconds ne déterminaient sur le lapin que des troubles légers et fugaces. Ce dernier détail autorise à penser que la même matière infectante n'agira peut-être pas d'une manière égale sur tous les êtres susceptibles de contracter le tétanos. Une terre qui donne la maladie au cobaye et au lapin ne la provoque peut-être pas chez l'homme : les microbes qu'elle contient peuvent être pathogènes, favorisants pour les uns et non pour l'autre. Il ne répugne pas, en effet, d'admettre que le pouvoir tétanigène de tel ou tel produit dépend non seulement de la présence du germe spécifique, mais encore de la qualité des microbes qui l'accompagnent. Si la souillure qui introduit les spores tétaniques dans une plaie n'y dépose pas simultanément les bactéries propres à aider leur culture, l'infection ne s'effectuera sans doute pas ; peut-être les microbes capables de remplir ce rôle chez l'homme sont-ils moins communs que l'agent spécifique lui-même, ce qui expliquerait la rareté du tétanos malgré l'ubiquité de sa cause. Mais on conçoit que la maladie se transmettra d'une manière presque fatale d'un sujet à l'autre, au moyen des instruments souillés par le pus de la plaie d'un tétanique : l'instrument importe, à la fois, et le germe spécifique et la bactérie qui a déjà favorisé sa culture dans le cas antérieur, origine de la contagion.

Il importerait de connaître par quel mécanisme ces microbes

facilitent la germination du bacille tétanique. Nous avons cru l'entrevoir dans l'étude même des lésions qu'ils provoquent, seuls ou associés aux spores. Malgré leurs physionomies diverses, ces altérations se caractérisent toujours par un afflux leucocytaire considérable qui aboutit soit à une collection puriforme, soit à la formation d'une pseudo-membrane. Dans les deux cas, la plupart de ces leucocytes sont mortifiés, les autres sont remplis par les microbes qu'ils ont englobés. Les bactériennes favorisantes ont donc la propriété d'attirer très vivement les leucocytes et aussi de les nécroser; leurs cultures stérilisées par la filtration sur terre poreuse agissent exactement de même. Ne serait-ce pas en vertu de cette double action que ces bactéries fournissent aux germes l'appui dont ils ont besoin? elles absorberaient d'abord toute l'activité des phagocytes qui obéissent aux sollicitations chimiotactiques dominantes, et les frapperaient de mort ensuite; les spores, alors préservées contre l'englobement, peuvent germer. Ainsi paraissent agir les cultures vivantes ou stérilisées du *microc. prodigiosus*, dont le pouvoir favorisant a été signalé et interprété par l'un de nous dans un mémoire antérieur¹.

Le rôle dévolu aux associations microbiennes dans l'étiologie du tétanos n'a pas seulement de l'intérêt au point de vue de l'histoire générale des maladies parasitaires; sa connaissance importe encore à la pratique. Il est vraisemblable, en effet, que l'application de la plus rigoureuse antisepsie au traitement de toutes les plaies, même les plus légères, réduira au minimum les chances d'infection tétanique. Non pas que les spores pathogènes puissent être ainsi détruites (leur résistance est supérieure aux moyens dont on dispose), mais les antiseptiques agiront sur les microbes qui les accompagnent. Ceux-ci sont plus fragiles que les germes tétaniques. Les éliminer ou les empêcher d'évoluer, ce sera purifier la matière infectante et réduire les spores à leurs propres forces; alors sans doute, comme chez l'animal, elles seront incapables de cultiver et deviendront la proie des phagocytes. Les plaies anfractueuses, comportant des infiltrations hémorragiques ou des nécroses de tissus, les fractures

1. Cette explication est donnée à titre d'hypothèse; des recherches en cours permettront de savoir dans quelle mesure elle est fondée. Peut-être le mécanisme de l'action favorisante est-il plus complexe qu'il ne paraît de prime abord.

ouvertes offriront toujours des dangers plus grands, parce qu'elles semblent éminemment propices à la végétation des spores, mais les autres plaies laisseront un champ facile à la prophylaxie. S'il est certain que, depuis la vulgarisation de l'antisepsie, le tétanos est devenu plus rare à la suite des opérations ou des grands traumatismes, on doit convenir que, le plus souvent aujourd'hui, il est provoqué par des plaies minimales, insignifiantes même. La raison en est simple : les traumatismes graves appellent un large usage des antiseptiques ; les plaies légères ne sollicitent pas l'attention, ne sont l'objet d'aucun soin.

*Pourquoi le tétanos n'est pas indéfiniment transmissible
d'animal à animal?*

La plupart des maladies parasitaires se transmettent indéfiniment d'animal à animal par l'inoculation du virus recueilli sur les sujets infectés, et, comme conséquence habituelle de ces transplantations successives, le virus s'exalte. C'est un fait bien connu que pour le tétanos il n'en est pas ainsi : les passages que l'on obtient sur le cobaye ou le lapin à l'aide des produits prélevés dans la plaie d'un tétanique sont très peu nombreux, et prennent fin au troisième ou quatrième terme. Qu'il s'agisse du virus provenant de l'homme ou de celui que l'on emprunte à l'animal tétanisé par la terre, les résultats sont semblables ; souvent même le premier virus est celui dont l'activité s'éteint le plus vite, dès le deuxième passage. Dans les séries les plus favorables, les faits se passent généralement de la manière suivante.

Un cobaye infecté avec de la terre devient tétanique du troisième au quatrième jour et meurt en 24 ou 36 heures. Le pus de cet animal, transporté sur un second, provoque une maladie dont l'incubation est toujours courte : le tétanos apparaît en moins de 24 heures, et la mort peut survenir dans les 36 heures qui suivent l'inoculation. Le cobaye inoculé avec le pus du précédent succombe de même à un tétanos de brève incubation et d'évolution rapide. Mais de ce que le virus tue plus rapidement, il ne faut pas induire que son action pathogène est devenue plus sûre pour l'avenir. En effet, ou bien le quatrième cobaye ino-

culé ne présente aucun symptôme morbide, ou bien après 3 ou 5 jours il est pris d'un tétanos à marche lente qui reste chronique et se termine par guérison.

Ainsi, par son passage sur un premier animal, le virus semble acquérir une activité plus grande qui se traduit par la courte incubation du tétanos et son évolution plus prompte¹; puis rapidement, brusquement, il cesse d'agir. Quelle en est la raison?

M. Bossano² explique cette singularité par l'atténuation que subit le bacille tétanique chez le cobaye, le lapin, etc. Mais cette hypothèse, que n'appuie aucune preuve, est en contradiction avec les faits. Ainsi, après avoir isolé et cultivé dans des conditions identiques le bacille que recèle la plaie de chaque cobaye de passage, on compare la toxicité de ces différentes cultures en les inoculant à la même dose : toutes se montrent également actives. Le bacille emprunté à la plaie du dernier animal qui succombe dans une série, et dont le pus n'a pas provoqué le tétanos, fournit des cultures aussi toxiques que le bacille provenant du premier terme de la série. Si donc ce pus a été inactif, ce n'est assurément pas parce que le bacille s'y trouvait atténué et inapte à élaborer le poison; ce qui le prouve mieux encore, c'est qu'il sera possible, par un simple artifice, de lui rendre tout son pouvoir pathogène.

La cause en vertu de laquelle le tétanos ne se transmet pas indéfiniment, doit être cherchée surtout dans la diminution progressive du nombre et de l'activité des microbes favorisants, comme l'établissent les faits ci-dessous.

Lorsqu'on ensemence dans la gélatine, à l'air et à l'abri de

1. De ce que le pus emprunté au premier et au deuxième cobaye donne plus rapidement le tétanos que la terre elle-même, il ne faudrait pas conclure que le virus a été exalté par son passage sur l'animal. Cette moindre durée de la période d'incubation tient aux conditions suivantes : la terre inoculée ne renferme que des *spores*; celles-ci doivent germer et devenir filaments avant de sécréter la toxine qui provoquera le tétanos. L'incubation représente le temps nécessaire aux spores pour cultiver et au poison pour agir. Dans le pus de ce premier animal existent surtout des bacilles tétaniques jeunes, en voie de multiplication, élaborant la toxine et prêts à la sécréter incontinent dans la plaie où on les transportera. En inoculant le pus, on supprime donc le temps qui était antérieurement nécessaire à la végétation des spores; la toxine est élaborée aussitôt par les bacilles. De là la brièveté de l'incubation.

2. BOSSANO. Atténuation du virus tétanique par le passage sur le cobaye. *Comptes rend. Ac. des Sc.*, décembre 1888.

l'air, une quantité toujours égale du pus prélevé dans la plaie de chaque cobaye de passage, il se développe par la suite un nombre variable de colonies dont la proportion sert de mesure approximative à la richesse en bactéries des divers pus examinés. De la comparaison des résultats ressort cette particularité constante. Abstraction faite du bacille tétanique, les microbes sont extrêmement abondants dans la plaie de l'animal inoculé avec la terre; mais leur nombre décroît d'une manière remarquable dès le premier passage, et c'est à peine si quelques-uns se développent dans les milieux ensemencés avec le pus du dernier cobaye qui succombe, pus dont l'inoculation a été stérile ou suivie d'un tétanos curable. Trois recherches de cet ordre, faites en ensemencant toujours la quantité de pus contenue dans une même anse de platine, ont donné les résultats suivants :

SÉRIE A

Abstraction faite du bacille tétanique.

Cobaye 1. Inoculé avec la terre.	Mort le 5 ^e jour.	Le pus donne	32,570 colonies.
Cobaye 2.	—	Mort en 36 heures.	— 420 —
Cobaye 3.	—	Mort en 48 heures.	— 7 —
Le pus du cobaye 3 n'a pas provoqué le tétanos.			

SÉRIE B

Cobaye 1. Inoculé avec la terre.	Mort le 4 ^e jour.	Le pus donne	1,386 colonies.
Cobaye 2.	—	Mort en 32 heures.	— 70 —
Cobaye 3.	—	Mort en 40 heures.	— 49 —
Cobaye 4.	—	Tétanos chronique.	

SÉRIE C

Cobaye 1. Inoculé avec la terre.	Mort en 5 jours 1/2.	Le pus donne	2,800 colonies.
Cobaye 2.	—	Mort en 50 heures.	— 42 —
Le pus du cobaye 2 n'a pas donné le tétanos.			

Les microbes importés par la terre dans la plaie du premier cobaye de chaque série perdent assez rapidement l'aptitude à se développer dans les tissus lorsqu'on les transporte d'un animal à l'autre; leur multiplication devient alors de moins en moins active, comme l'indiquent les chiffres qui précèdent. Il convient de dire toutefois que le microscope ne donne pas toujours des renseignements conformes à ceux des cultures. Ainsi tel pus paraît très riche en bactéries qui, ensemencé, ne fournit qu'un nombre extrêmement restreint de colonies. Sans doute beaucoup des microbes visibles sur les préparations colorées ont perdu de leur vitalité et deviennent inaptes à se développer sur les milieux

nutritifs; l'affaiblissement progressif de leur activité pathogène se traduit, d'ailleurs, par ce fait que les lésions locales diminuent graduellement d'importance au fur et à mesure des passages.

Il ressort donc que chez les animaux inoculés en série, la proportion des microbes contenus dans le pus de chacun d'eux décroît rapidement avec les passages, et tombe finalement à un taux presque nul. Or, à ce moment précis, le pus devient inactif. Rapprochant les deux circonstances, on est tenté de les subordonner l'une à l'autre et de dire : le pus cesse d'être virulent parce qu'il ne renferme plus les microbes nécessaires pour faciliter la végétation du bacille tétanique. La preuve en est donnée par l'expérience suivante. Un cobaye de troisième passage meurt tétanique. Le pus de la plaie, examiné au microscope, ne montre que très peu de microbes, et, en raison de ce fait, on présume qu'il ne sera pas virulent. Le foyer de la lésion est enlevé totalement et divisé en deux parts égales. L'une est inoculée telle quelle; l'autre est additionnée préalablement de 0^{cc},5 de la culture en bouillon d'un microbe favorisant. Le cobaye qui a reçu le pus additionné de microbes favorisants devient tétanique; l'autre ne présente ultérieurement aucun symptôme morbide. N'est-il pas certain que si la transmission du tétanos s'est arrêtée ici au troisième terme, ce n'est pas parce que le bacille spécifique était absent ou atténué, mais bien parce que les microbes favorisants faisaient défaut à la matière inoculée?

Une autre circonstance qui n'est pas sans rapport étroit avec la précédente intervient aussi : la diminution progressive du bacille tétanique lui-même. Très abondant dans la plaie de l'animal infecté par la terre, il le devient de moins en moins dans la plaie des cobayes de passage, sans jamais disparaître cependant; les cultures démontrent toujours sa présence dans le pus du cobaye qui marque le terme des transmissions, mais il ne peut plus se multiplier dans une nouvelle plaie. Du fait des passages successifs, il s'est produit une purification graduelle du virus. Les microbes favorisants perdent de leur vitalité et de leur activité pathogène à chaque transplantation nouvelle; beaucoup disparaissent, et il arrive un moment où la matière inoculée ne renferme pour ainsi dire plus que le bacille tétanique. Livré à lui-même, celui-ci devient inoffensif; de là l'arrêt de la virulence.

Du tétanos dit « spontané ».

Dans les circonstances les plus ordinaires, le tétanos de l'homme survient à une période assez rapprochée du traumatisme qui le provoque. L'examen microscopique, les cultures ou l'inoculation démontrent la présence du bacille spécifique dans la plaie; celui-ci s'est multiplié au point même où il était entré. Mais, à côté de ces faits d'une grande simplicité, il en est d'autres dont l'interprétation est moins aisée, et pour lesquels on ignore où et comment s'est faite la culture du virus.

Parfois la plaie qui paraît avoir servi de cause au tétanos est déjà cicatrisée au moment où la maladie débute, et l'on n'y trouve plus trace de l'agent pathogène. Les exemples de ce genre ne sont point rares: récemment encore nous avons pu en observer un, grâce à l'obligeance de M. Magnan. Il s'agissait d'un homme jeune, jardinier de profession, qui, au cours d'une véspanie d'origine alcoolique, fut brusquement pris d'un tétanos à marche suraiguë. L'autopsie du sujet ne décelait d'autres plaies que des excoriations superficielles à la face dorsale des orteils, et une petite ulcération, presque entièrement cicatrisée, à la plante de l'un des pieds. En raison de la profession du malade, il y avait lieu de penser que l'une ou l'autre de ces lésions avait pu, par le contact avec la terre, servir de porte d'entrée au virus et de siège à sa culture. Tous les vestiges de plaies, toutes les cicatrices visibles furent excisés et inoculés à des cobayes; aucun de ces animaux n'a pris le tétanos. Desensemencements faits avec le sang et la pulpe de différents viscères ne donnèrent pas lieu au développement du bacille tétanique. Il était donc impossible de savoir en quel point de l'organisme le microbe s'était implanté et multiplié.

D'autre fois on a vu le tétanos survenir, sans plaie préalable, à la suite de refroidissements brusques ou prolongés, de fractures simples, luxations ou tentatives pour les réduire, contusions, efforts musculaires violents, etc. Bien que la plupart de ces observations aient été recueillies à une époque où l'on ne soupçonnait guère l'importance d'une plaie, si minime fût-elle, quelques-unes toutefois mentionnent expressément l'absence de toute lésion cutanée. Comment concevoir la genèse de semblables

tétanos? La cause n'en peut être cherchée en dehors du microbe spécifique; mais par où celui-ci a-t-il pénétré? en quel point et pourquoi a-t-il crû?

L'étude méthodique de ces faits n'a pas été abordée jusqu'ici, et, à défaut de notions précises, on en est réduit aux hypothèses pour les interpréter.

Quelques observations recueillies au cours de ces recherches ne sont pas sans intérêt à ce point de vue, et méritent d'être consignées à titre de document sur la question : elles démontrent que les spores introduites dans l'organisme peuvent y sommeiller pendant un temps très long, germer ensuite sous l'influence de causes diverses, et provoquer un tétanos qui semble spontané.

L'exemple suivant est très caractéristique. Pour éprouver l'immunité d'un cobaye né d'une mère vaccinée, on injecte le 22 novembre 1891, dans l'épaisseur de la cuisse droite, 1/15 de c. c., d'un mélange de spores tétaniques et d'une solution lactique. L'animal ne présenta ultérieurement aucun symptôme tétanique, tandis que le témoin succombait le troisième jour. Au commencement du mois de mars 1892, ce cobaye s'amaigrit rapidement, mange peu, prend une attitude en boule; son poil devient sec, hérissé. Le 7 mars on remarque que la patte postérieure droite est gênée dans les mouvements; dès le lendemain elle est rigide en extension forcée, et les jours suivants la contracture devient telle que le membre est renversé, la face plantaire du pied dirigée vers le dos. Le tétanos reste localisé à ce membre, mais l'animal se cachectise de plus en plus et meurt le 15. A l'autopsie on retrouve facilement dans les muscles de la patte contracturée les vestiges de l'inoculation du 22 novembre, sous la forme d'un petit foyer ocreux presque contigu au nerf sciatique. L'examen y montre de nombreux bâtonnets sans renflement qui, par l'ensemencement, donnent une culture typique du bacille tétanique.

Ainsi, après trois mois et demi, le virus conservait encore sa vitalité et son aptitude pathogène dans l'organisme d'un cobaye héréditairement immunisé. Survient alors une cachexie progressive sans lésion appréciable des organes; les spores végètent, une culture abondante se fait au point même où elles avaient été introduites, donnant lieu à un tétanos qui, en raison de l'immunité relative dont jouissait l'animal, reste localisé.

Le fait qui suit n'est pas moins intéressant. A plusieurs lapins on injecte sous la peau du ventre (d'un seul côté) des doses variables de spores chauffées, correspondant à 30, 40, 50, 60 et même 65 cent. cubes de culture. De ces animaux, un seul, celui qui avait reçu la moindre dose, devient tétanique. Trente jours après l'inoculation, ce lapin présente brusquement tous les symptômes d'un tétanos généralisé d'emblée : trismus, raideur des membres, de la nuque et du tronc sans incurvation latérale, crises convulsives; la mort survient moins de 24 heures après le début des accidents. A l'autopsie, l'examen des trois foyers de l'inoculation sous-cutanée ne montre qu'une proportion minime de spores tétaniques, et toutes sont incluses dans les leucocytes; on n'y rencontre pas de formes bacillaires résultant de leur végétation. Le foie est augmenté de volume, noir, friable, criblé de nodules gris jaunâtre et de foyers pisiformes, à centre ramolli, caséeux. L'examen microscopique de plusieurs de ces tumeurs ne montre pas de formes bacillaires.

Le tétanos expérimental des animaux débute toujours par la partie du corps qui a été infectée (hormis le cas de l'inoculation dans le sang, le péritoine ou sous la dure-mère). Il y a lieu de penser, en raison de la généralisation d'emblée des symptômes tétaniques chez ce lapin, que la culture des spores s'est faite non pas dans la région primitivement infectée, mais ailleurs, dans le péritoine ou un viscère. Rapprochant cette donnée de l'état pathologique du foie, on peut se demander si ce n'est pas au niveau de l'une ou l'autre des lésions hépatiques que des spores transportées par un leucocyte sont venues échouer, germer pour produire la maladie. Si la preuve fait défaut, il est du moins certain que l'état morbide du foie est intervenu pour favoriser la végétation de quelques spores, puisque les autres lapins ayant reçu des doses de culture beaucoup plus grandes n'ont présenté ultérieurement aucun symptôme tétanique. Il convenait de signaler que, plus ou moins longtemps après leur introduction dans l'organisme, les spores peuvent cultiver dans un point autre que celui où elles ont pénétré.

Des faits similaires se produisant chez l'homme n'expliqueraient-ils pas ces cas de tétanos que l'on dénomme *spontanés*, parce qu'ils se déclarent sans plaie concomitante? Il est permis d'imaginer que des circonstances multiples peuvent apporter des

spores au contact des tissus, d'une plaie passant inaperçue. La maladie ne se produira pas toujours pour cela; sans doute alors les spores sont englobées par les leucocytes dont le rôle prophylactique a été établi. Mais toutes les spores englobées ne sont pas aussitôt détruites. Quelques-unes restent encore vivantes après trois mois et plus, comme le démontrent les faits empruntés à l'expérimentation; elles demeurent immobilisées dans le leucocyte tant que celui-ci conserve son intégrité, et, malgré une longue inclusion, ne perdent pas leur aptitude pathogène.

Que le leucocyte contenant les spores soit fixé dans la cicatrice, ou qu'il émigre ailleurs au gré de la circulation lymphatique, il porte donc en lui un germe qui reste menaçant et dangereux jusqu'au jour de sa destruction complète. Pendant cette période où la spore est vivace, il peut surgir une cause générale ou locale, capable de nuire à la vitalité des leucocytes sporifères; ceux-ci se rompent et mettent le germe en liberté. Si le milieu est propice et si d'autres conditions s'y prêtent, les spores ainsi libérées deviendront le point de départ d'une culture où le poison sera élaboré. Chez le cobaye, cette cause a été une cachexie progressive: les spores ont germé là où elles avaient pénétré. Chez le lapin, la condition pathogénique semble avoir résidé dans les altérations graves du foie: les spores ont végété hors de la région où elles avaient été introduites. Chez l'homme ce pourra être une contusion, une fracture, une luxation, un refroidissement prolongé, une maladie infectieuse comme la pneumonie¹, ou encore des troubles cérébraux comme chez le malade de M. Magnan. Trouver alors le point où s'est faite la culture du virus sera bien difficile. L'examen de toutes les cicatrices peut rester négatif, et, dans les viscères, le foyer où les bacilles ont pu se multiplier échappera aisément, car il n'est pas besoin d'une prolifération intensive du microbe pour que la dose de toxine capable de donner la mort soit sécrétée.

Nous avons essayé de reproduire chez l'animal les faits de ce genre, mais sans y parvenir jusqu'ici. Chez des cobayes qui, à des dates variables, avaient reçu sous la peau 1 et 2 c. c. de cultures tétaniques chauffées à 80°, on a déterminé des lésions locales, loin des foyers d'inoculation, soit par l'injection de

1. BOUCHAUD. *Journal des Sciences méd. de Lille*, février 1890.

microbes, soit par des traumatismes, contusion, fracture simple, fracture par coup de feu; chez d'autres on a tenté de produire des troubles généraux par l'action de poisons microbiens, du refroidissement, des vicissitudes atmosphériques. Jamais le tétanos n'est survenu. Mais de ce que les conditions pathogéniques suffisantes n'ont pas été réalisées dans ces expériences, il ne s'ensuit pas qu'elles ne puissent être reproduites; c'est ce que nous apprendront peut-être de nouvelles recherches.

ATROPHIE MUSCULAIRE PROGRESSIVE EXPÉRIMENTALE

PAR M. H. ROGER.

(Travail du laboratoire de M. le professeur Bouchard.)

(Avec la planche X)

I

Pendant longtemps la pathologie expérimentale n'a pu produire que des traumatismes; le jour où l'on connut le rôle des agents figurés dans la genèse des infections, elle devint capable de faire naître des maladies. On observa alors, sur les différents organes, des localisations morbides semblables à celles qui se développent au cours des affections spontanées de l'homme et des animaux. Le microbe se trouva constituer un moyen d'étude analogue au poison; tous deux purent pénétrer là où le scalpel ne pouvait parvenir, et créer des troubles ou des altérations cellulaires que la vivisection la plus perfectionnée était incapable de réaliser.

La clinique démontrait que l'infection n'épargne pas le système nerveux; tantôt elle suscite le réveil de névroses ou l'apparition de psychopathies plus ou moins durables et ne relevant d'aucune lésion appréciable; tantôt elle détermine des altérations passagères ou permanentes au niveau du cerveau, de la moelle, des nerfs périphériques. Dès lors on tenta de reproduire chez les animaux des troubles analogues à ceux qui surviennent chez l'homme. A la suite d'injections de cultures vivantes ou stérilisées, on vit se développer des paralysies, mais on ne trouva aucune lésion en examinant les diverses parties du système nerveux; même dans les cas de paralysie diphtéritique expérimentale, on constata l'intégrité parfaite des nerfs périphériques et des centres : il y avait donc une différence manifeste

entre les résultats qu'on observait chez l'homme et ceux qu'on obtenait chez les animaux.

Au cours d'expériences que je poursuis avec un streptocoque, j'ai pu produire chez le lapin une myélite systématique, caractérisée anatomiquement par des lésions des cellules des cornes antérieures, et se traduisant, pendant la vie, par l'atrophie des muscles des membres postérieurs.

Cette myélite s'est développée dans les circonstances suivantes.

Au mois de janvier 1890, j'avais entrepris quelques recherches avec un streptocoque qui provenait d'un érysipèle et possédait un haut pouvoir pathogène; injecté dans les veines, il tuait les lapins en deux ou trois jours. Vers le mois d'avril, sa virulence et sa végétabilité diminuèrent; bientôt il cessa de croître dans le bouillon et je crus qu'il était mort. C'est alors que je le semai dans du sérum de lapin; il se développa abondamment et se montra de nouveau pathogène; il devint même tellement actif que son inoculation sous-cutanée entraîna souvent la mort des animaux en quelques jours. Je voulus savoir combien de temps ce streptocoque conserverait ses propriétés nocives; à partir du mois de juillet 1890, je le cultivai dans du sérum, sans jamais le faire repasser par l'animal; seulement je pratiquai de temps en temps une inoculation pour déterminer son degré d'activité. Au mois de décembre 1890, la virulence s'affaiblit un peu; l'inoculation de 0^{cc},5 à 0^{cc},75 n'entraîna la mort qu'en 5 ou 6 jours; en avril 1891, il fallut, pour obtenir le même résultat, injecter 1^{cc},5 ou 2 c. c. de la culture. C'est alors qu'en inoculant de 0,25 à 1 c. c., je vis se développer une maladie chronique, caractérisée par l'atrophie des muscles des membres postérieurs. A partir de juin 1891, on pouvait encore obtenir cette affection avec des doses de culture très élevées, 1^{cc},5 par exemple.

Du 13 avril au 7 octobre 1891, j'inoculai 14 lapins, et chez tous j'obtins le développement des amyotrophies; mais à partir de cette époque, la virulence disparut. L'inoculation intra-veineuse, même à fortes doses, ne détermina plus aucun phénomène morbide. J'essayai, par divers procédés, de rendre à ce microbe ses propriétés pathogènes; c'est ainsi que je l'injectai à des animaux en même temps que les produits de culture stérilisés du *B. prodigiosus*; la mort survint en 5 ou 6 jours; l'ensemencement permit de retrouver le streptocoque dans tous les

organes; mais s'il avait pu produire une septicémie, grâce à l'action adjuvante du *B. prodigiosus*, il n'aurait pas repris sa virulence; les cultures se montraient inoffensives.

Ainsi le streptocoque qui a servi à mes recherches a passé par les phases suivantes: pendant près de 4 mois, les cultures dans le bouillon se montrèrent virulentes, puis elles perdirent leurs propriétés pathogènes et leur végétabilité; semé dans le sérum, le streptocoque récupéra sa virulence et la conserva 6 mois; pendant 6 autres mois, il fut capable de produire une maladie chronique; au bout de ce temps, il perdit son pouvoir nocif d'une façon qui semble définitive.

Je me suis trouvé ainsi dans l'impossibilité de continuer mes recherches sur les myélites expérimentales d'origine infectieuse; aussi beaucoup de questions qui se posent actuellement sont-elles sans solution. Ce travail sera donc incomplet; je ne pourrai achever mes expériences que si je parviens, par des cultures successives dans le sérum, à donner à un nouvel échantillon de streptocoque la propriété de créer des myélites; de pareilles tentatives exigent des mois et des années; c'est ce qui m'a engagé à publier les premiers résultats que j'ai obtenus.

II

SYMPTOMATOLOGIE. — Les cultures dans le sérum, qui se sont montrées capables de produire les amyotrophies, ont toujours été injectées dans les veines. A la suite de l'inoculation, les animaux semblent peu atteints; ils paraissent souffrants pendant un jour ou deux; puis ils se rétablissent et restent bien portants une, deux ou trois semaines; au bout de ce temps, on voit se produire un amaigrissement progressif des membres postérieurs, des régions fessières et des masses sacro-lombaires; le poids des animaux diminue constamment, mais d'une façon variable; de 2,000 il tombe à 1,800, parfois à 1,600 et même à 1,500 grammes. Mais ce qui donne un caractère particulier à cette émaciation, c'est que la partie antérieure du corps est épargnée; les pattes de devant et la tête restent intactes; quand les lapins sont couchés et qu'on les regarde de face, il est impossible de soupçonner la maladie dont ils sont atteints.

En même temps qu'ils s'atrophient, les muscles perdent leur énergie primitive; mais on n'observe pas de paralysie à proprement parler; l'animal peut marcher; seulement il le fait avec difficulté et maladresse; quand il est allongé et qu'on rejette son train de derrière à droite ou à gauche, il ne peut reprendre sa position primitive qu'après plusieurs oscillations latérales; quand il est debout ou qu'il marche, le moindre choc lui fait perdre l'équilibre; enfin quand on place ses membres antérieurs sur un plan plus élevé que les postérieurs, l'animal éprouve une grande peine à soulever ceux-ci; quelquefois il est incapable d'exécuter ce mouvement.

Ainsi l'ensemble des troubles observés est bien plutôt en rapport avec l'amyotrophie qu'avec un état parétique. L'analogie avec l'atrophie musculaire se complète par l'existence de contractions fibrillaires; celles-ci peuvent se montrer spontanément; mais généralement il faut en provoquer l'apparition, soit en percutant les muscles à plusieurs reprises, soit en les soumettant à l'action de courants galvaniques ou faradiques; à la suite de l'électrisation, on peut voir se produire des séries de contractions fibrillaires, qui persistent parfois pendant dix ou quinze minutes.

Sous l'influence des courants électriques, les muscles se contractent à peu près comme les muscles normaux. Avec les courants continus, je n'ai pas trouvé de réaction de dégénérescence; ce résultat, assez surprenant au premier abord, s'explique par la persistance d'un grand nombre de fibres normales au milieu des fibres atrophiées.

Un phénomène qui m'a paru constant, c'est la diminution de la résistance aux courants continus; c'est ainsi que chez un animal normal j'obtenais, par exemple, avec 4 éléments, une déviation de 5 milliampères, et avec 10 une déviation de 11; chez un atrophique, la déviation était de 7 dans le premier cas, de 15 dans le second. Il faut évidemment tenir compte de ce résultat, pour apprécier avec justesse la contractilité musculaire dans les cas d'amyotrophie.

Jamais je n'ai observé chez mes animaux l'état spasmodique des muscles, les phénomènes douloureux, les arthropathies et les troubles urinaires que l'on a signalés dans certains cas de paralysie expérimentale.

La mort peut être le résultat de l'extension de la myélite, ce

qui est exceptionnel. Généralement elle survient sans cause bien notable, précédée, pendant un ou deux jours, de manifestations diarrhéiques. Deux animaux ont succombé à une pneumonie : à l'autopsie on trouva une hépatisation rouge des deux bases, avec exsudats fibrineux épais dans les plèvres et le péricarde ; ces divers foyers morbides renfermaient un pneumocoque encapsulé, analogue à celui de l'homme.

Les autres animaux sont morts ou ont été tués de 10 à 38 jours après l'inoculation ; un seul, chez lequel les atrophies furent moins accentuées que d'habitude, résista fort longtemps ; il ne fut sacrifié que 6 mois après son inoculation.

Voici du reste un tableau qui pourra donner une idée de l'évolution que présente la maladie que j'ai essayé de décrire.

	DATES DES INOCULATIONS	QUANTITÉ de culture inoculée	INTERVALLE entre l'inocula- tion et l'apparition des amyotrophies	SURVIE DES ANIMAUX	
				depuis le début des amyotrophies	depuis le moment de l'inoculation
		c.c.	Jours	Jours	Jours
I	13 avril 1891. . .	1	7	15	22
II	Id. . .	1	11	3	14
III	Id. . .	1	11	7	18
IV	4 mai 1891 . . .	1,2	18	2	20
V	30 juin 1891 . . .	1,5	24	14	38
VI	14 juillet 1891 . .	1,5	11	7	18
VII	24 juillet 1891 . .	0,5	14	10	24
VIII	Id. . .	0,75	12	165	177
IX	1 ^{er} août 1891 . . .	1	13	19	32
X	21 août 1891 . . .	1,6	9	7	16
XI	9 septembre 1891.	1,5	8	2	10
XII	Id. . .	1	8	4	12
XIII	7 octobre 1891 . .	1,5	11	4	15

Lesensemencements, pratiqués avec les divers organes des animaux, sont restés stériles ; j'ai reconnu en effet que le streptocoque était détruit en 8 ou 10 jours ; il avait donc disparu de l'organisme quand se développaient les amyotrophies, souvent même depuis un temps assez long (lapins IV et V). Ce fait porte à

penser que le microbe n'agit que par ses produits de sécrétion ; évidemment cette hypothèse ne sera démontrée que le jour où l'on aura reproduit les amyotrophies avec des cultures débarrassées d'éléments figurés.

III

ANATOMIE PATHOLOGIQUE. — Pour apprécier facilement la distribution des amyotrophies, il faut examiner les cadavres après les avoir écorchés. On constate ainsi que les masses sacro-lombaires, si développées chez le lapin, sont complètement atrophiées ; les fessiers ne font plus leur saillie normale ; à leur place, on voit un méplat, déjà appréciable pendant la vie ; les muscles de la cuisse sont profondément atteints, ainsi que les triceps suraux ; ces derniers sont parfois réduits à de simples rubans.

Si l'on pèse les muscles, on obtient des résultats plus précis : le triceps sural n'atteint que 3 ou 4 grammes au lieu de 8 ; le triceps crural 5 à 7 au lieu de 12 ; les fessiers 3^{es}, 5 à 4 grammes au lieu de 8 à 9.

Les muscles des membres antérieurs sont quelquefois légèrement atrophiés ; le plus souvent ils sont presque intacts.

L'autopsie ne relève pas d'autres lésions. Les viscères semblent sains ; la moelle ne paraît pas altérée.

Examen histologique des muscles. — J'ai examiné les muscles après les avoir fixés au moyen de l'alcool, de la liqueur de Muller ou de l'acide osmique.

Sur les muscles, étudiés par dissociation, on constate que les faisceaux primitifs n'atteignent que la moitié ou le tiers de la largeur normale (fig. 1 et 2). Les stries transversales sont peu nettes ; par places, elles ont complètement disparu et le faisceau se présente sous l'aspect d'une masse homogène, parcourue seulement par quelques striations longitudinales plus ou moins apparentes. Sur quelques points, l'aspect est différent, les stries transversales ont persisté ; elles sont même plus larges qu'à l'état normal : il semble qu'à leur niveau il se soit fait une sorte de dissolution ; il en résulte que les fibres tendent à se décomposer en disques, comme cela s'observe quand on les soumet à l'action des acides ou de la congélation ; sur une même fibre on peut observer ces différents aspects.

Les éléments qui ont perdu leur striation transversale, possèdent un protoplasma homogène ou grenu. On étudie facilement ce protoplasma sur des préparations colorées au vert de malachite; ce procédé met bien en évidence les modifications des stries, et permet de saisir la formation de granulations et de vacuoles dans le protoplasma. Je n'ai pas observé de dégénérescence graisseuse.

En même temps que les fibres s'atrophient, il se produit une prolifération des noyaux (fig. 2), comme on peut facilement le constater dans les préparations colorées au picro-carmin et montées dans la glycérine additionnée d'acide formique. Les



Fig. 1.

Fibre musculaire normale.



Fig. 2.

Fibre musculaire atrophiée.

noyaux sont souvent si nombreux qu'ils peuvent, sur certains points, recouvrir presque complètement les fibres musculaires; ils sont ovalaires, comme les noyaux des muscles sains, mais généralement moins volumineux; on en compte en moyenne 10 à 12 fois plus qu'à l'état normal.

Tel est l'aspect que présentent les muscles quand on les examine sur un animal dont l'atrophie est bien prononcée; mais à une période moins avancée de la maladie, alors que l'atrophie n'est pas encore appréciable, on ne trouve qu'une seule lésion : la prolifération des noyaux. Friedreich, en se basant simplement sur des constatations anatomiques, avait déjà reconnu cette

particularité, qui se trouve pleinement confirmée par mes recherches.

Ce qui donne un caractère particulier à l'atrophie des muscles, c'est la distribution irrégulière et en quelque sorte individuelle des lésions. En examinant soit des dissociations, soit des coupes, on trouve, à côté de fibres altérées et souvent méconnaissables, un certain nombre de faisceaux, dont la largeur est légèrement diminuée, mais dont la striation est restée normale. La présence de fibres presque saines dans les muscles les plus atrophiés peut expliquer l'absence de la réaction de dégénérescence.

Les caractères que présentent les muscles altérés sont ceux qu'on observe dans les amyotrophies d'origine nerveuse; il semble donc résulter de ce simple examen, qu'il ne s'agit pas d'une altération primitive du muscle. On est ainsi conduit à rechercher s'il n'y a pas des lésions au niveau du système nerveux, et c'est sur la moelle que doit d'abord se porter l'attention.

Examen histologique de la moelle. — Les moelles qui ont servi à mes recherches ont toujours été prises sur des animaux sacrifiés; on les enlevait aussitôt après la mort; puis, après les avoir coupées en segments de 1 centimètre, on les plaçait dans une solution de bichromate de potasse à 20/0; le liquide était maintenu à l'étuve à 37° et on le renouvelait tous les huit jours. Au bout de 1 mois 1/2 ou 2 mois, le durcissement était suffisant pour pratiquer des coupes. Celles-ci ont été colorées au picrocarmin, au violet de gentiane, à la safranine, à l'hématoxyline de Ranvier; d'autres ont été traitées par le procédé de Weigert. Il va sans dire que j'ai toujours examiné comparativement des moelles saines, durcies et colorées de la même façon.

J'ai déjà dit qu'à l'œil nu, la moelle paraît intacte. Sur les coupes, les cornes antérieures ne semblent pas atrophiées; mais les cellules qu'elles renferment sont profondément atteintes.

Au début, les lésions sont disséminées irrégulièrement et, sur quelques points, au milieu de cellules dégénérées, on en trouve d'absolument normales. A un stade plus avancé, presque toutes les cellules sont altérées, au moins dans la région lombaire.

Pour étudier la nature et la marche du processus, il faut d'abord s'adresser à un animal sacrifié de 15 à 18 jours après

l'inoculation. Tel est le lapin n° X du tableau précédent, qui commença à présenter des atrophies 9 jours après l'inoculation et fut sacrifié 7 jours plus tard : c'est une des préparations obtenues avec la moelle de cet animal qui se trouve dessinée dans la figure 2 de la planche X.

Cette préparation montre deux cellules presque normales (A, A); à droite on en voit deux (C, C) qui sont notablement altérées : elles sont gonflées et, au lieu de présenter la forme polygonale des éléments sains (fig. 1, planche X), elles sont presque régulièrement arrondies; les prolongements ne sont plus visibles, enfin le protoplasma est moins opaque; il laisse passer plus facilement la lumière et, au lieu de se colorer en rouge par le carmin, il prend une teinte rose clair: seul le noyau persiste et continue à se colorer comme à l'état normal. Au début, l'altération n'occupe qu'une partie de la cellule; on voit une simple tache rosée qui envahit progressivement et se substitue au protoplasma normal; la partie qui entoure le noyau continue seule à se colorer en rouge.

A un stade plus avancé, il se forme des vacuoles dans la cellule; c'est ce qu'on peut observer déjà sur la moelle dessinée figure 2 (D); c'est ce qu'on voit nettement dans la figure 3 représentant la moelle d'un lapin (lapin IX) sacrifié 32 jours après l'inoculation et 19 jours après le début des amyotrophies. Dans cette préparation, on ne trouve pas de cellules saines; les unes (B) sont arrondies et teintées en rose; les autres sont creusées de vacuoles qui, d'abord limitées à une de leurs extrémités (C), s'étendent peu à peu et finissent par les envahir complètement; les cellules deviennent incolores et transparentes dans toute leur étendue. Pourtant, même à cette période avancée, on peut retrouver encore une petite quantité de protoplasma coloré en rose et accumulé autour du noyau (D). C'est en effet la portion périmoléculaire du protoplasma qui résiste le mieux.

Le noyau subsiste longtemps; on le retrouve dans un grand nombre de cellules complètement vésiculeuses; il peut même se diviser, car on voit quelques cellules altérées renfermer deux noyaux; mais à la fin il cesse de fixer la couleur, s'atrophie et disparaît à son tour. A la place de la cellule on ne trouve plus qu'une masse incolore ou présentant encore quelques points rosés.

Ailleurs, l'évolution est différente : le noyau cesse d'être distinct de meilleure heure : la cellule se présente alors sous l'aspect d'une masse rosée, homogène, arrondie, dépourvue de prolongements (F, G, fig. 3).

Les cellules de la névrogie sont tuméfiées et pour la plupart vésiculeuses ; leurs noyaux continuent à se colorer en rouge vif.

Les animaux inoculés ont succombé ou ont été sacrifiés un mois au plus après l'inoculation ; un seul (lapin VIII) a survécu plus longtemps ; on le tua six mois après l'injection du streptocoque. Chez cet animal, les atrophies n'avaient pas été très marquées, ce qui explique peut-être sa survie plus longue.

Sur les coupes de la moelle, on trouve de profondes lésions portant sur les vaisseaux, la névrogie, les cellules motrices.

Les vaisseaux (H, H, fig. 4) sont fortement dilatés et gorgés de sang. En quelques points, j'ai même trouvé de petits foyers d'hémorragie au niveau des cornes antérieures. Il est important de remarquer que les phénomènes congestifs font défaut chez les lapins sacrifiés au début de la maladie ; ils s'observent à un léger degré chez ceux qui ont été tués au bout d'un mois (H, H, fig. 3) ; ils n'ont été très marqués que chez celui qui a survécu six mois.

La névrogie est très altérée ; la plupart des cellules qui la composent sont devenues vésiculeuses et les noyaux ont disparu ; c'est ce qu'on saisit facilement, en comparant la figure 4 avec les figures 1 et 2.

Les lésions les plus intéressantes sont évidemment celles que présentent les cellules motrices. Sur la plupart des coupes, on constate que le nombre en a diminué dans des proportions très considérables ; on peut, dans une préparation, n'en trouver qu'une ou deux encore reconnaissables. Mais les altérations sont distribuées d'une façon très irrégulière ; même au niveau de la région lombaire, on voit par places des groupes de cellules qui ne diffèrent guère des éléments normaux ; elles sont seulement plus petites, moins nettement délimitées, et leurs prolongements sont peu visibles (elles sont analogues aux cellules B, B, B, fig. 2). La plupart des cellules motrices présentent des altérations semblables à celles que j'ai déjà décrites : tuméfaction, coloration rosée du protoplasma, dégénérescence vacuolaire (A, C, fig. 4) ; quelques-unes ont subi la dégénérescence pigmentaire. Enfin on en

voit un certain nombre (F, G) dont le noyau a complètement disparu, elles ne sont plus représentées que par une masse arrondie, uniformément teintée en rose; cette dernière lésion s'observait déjà sur les autres moelles; mais sur celle-ci elle est bien plus fréquente.

Les descriptions que je viens de donner ont été faites d'après des préparations colorées au picro-carmin; ce sont celles qui permettent d'étudier le mieux les lésions cellulaires. Les résultats sont analogues quand on se sert de l'hématoxyline, de la safranine ou du violet de gentiane; par la méthode de Weigert, les cellules des cornes antérieures, au lieu de prendre une teinte rouge, restent absolument incolores. Du reste, quelle que soit la substance employée, la coloration des tissus malades, cellules nerveuses et névroglie, est assez difficile à obtenir; il faut laisser les coupes en contact avec la matière tinctoriale pendant un temps assez long, 24 heures s'il s'agit du picro-carmin, pour obtenir une bonne préparation.

Racines antérieures et nerfs périphériques. — Malgré les altérations si profondes des cellules motrices, les racines antérieures ne sont guère atteintes. Chez les animaux qui ont succombé de 15 jours à 1 mois après l'inoculation, je les ai trouvées normales. Cette intégrité, disais-je dans une note à l'Académie des Sciences (26 octobre 1891), peut tenir soit à l'évolution trop rapide de la maladie, soit à la persistance des noyaux cellulaires. Depuis cette époque j'ai étudié la moelle d'un lapin sacrifié six mois après l'inoculation (lapin VIII), et j'ai pu constater, au niveau des racines antérieures, des altérations qui, pour être légères, n'en sont pas moins incontestables. En examinant les coupes des racines antérieures, on voit qu'à côté des tubes normaux, il s'en trouve d'autres dont l'intérieur est rempli par une masse colorée uniformément en rose; c'est la lésion la plus fréquente. Plus rarement, on rencontre des tubes dont l'intérieur est complètement vide et qui sont atrophiés.

Il est donc incontestable que les racines antérieures résistent d'une façon assez curieuse; même chez l'animal qui a survécu six mois, les lésions sont en effet minimales. Ce résultat paraîtra moins singulier si l'on veut bien se rappeler qu'il en est parfois de même chez l'homme; il existe des observations bien étudiées

où, malgré l'existence de polymyérites antérieures datant d'un grand nombre d'années, les racines sont restées saines. J'ai eu l'occasion d'examiner la moelle d'un lapin dont la région lombaire était creusée d'une énorme cavité pathologique; les cornes antérieures étaient refoulées et leurs cellules profondément atteintes; la lésion datait de six mois, et pourtant les racines antérieures n'étaient pas plus altérées que chez l'animal dont j'ai parlé en dernier lieu.

Le système nerveux périphérique a été étudié au niveau des troncs et des filets musculaires. Sur les dissociations, après action de l'acide osmique, j'ai constaté l'intégrité de presque tous les tubes nerveux: on en trouvait quelques-uns dont la myéline était segmentée et qui présentaient un aspect moniliforme; mais, sur les nerfs normaux, on rencontre presque autant de tubes semblables. L'intégrité des nerfs périphériques n'est pourtant pas complète; car sur les nerfs fixés par le bichromate de potasse, les cylindraxes se colorent plus difficilement qu'à l'état normal par le picro-carmin: dans un très grand nombre de tubes, ils ne sont visibles que par places. Cette altération, analogue à celle que M. Gombault ¹ a décrite chez l'homme, est assez curieuse, puisque d'après les données courantes en neuropathologie, il est admis que les lésions du cylindraxe entraînent forcément des dégénérescences de la myéline.

En résumé, la maladie que j'ai pu produire expérimentalement frappe surtout les deux parties extrêmes du système neuro-musculaire, les cellules des cornes antérieures et les fibres striées; les portions intermédiaires, racines antérieures et nerfs périphériques, restent intacts ou ne présentent que des lésions minimes.

IV

Mes premiers résultats avaient été communiqués à la fin de l'année 1891 ². Quelques mois plus tard, MM. Gilbert et Lion ³

1. GOMBAULT, Sur l'état des nerfs périphériques dans un cas de myopathie progressive. *Archives de médecine expérimentale*, 1889.

2. ROGER, Atrophie musculaire progressive expérimentale: *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 26 octobre 1891.

3. GILBERT et LION, Des paralysies produites par le bacille d'Escherich. *Société de Biologie*, 13 février 1892.

décrivirent les paralysies produites chez le lapin par le bacille d'Escherich et signalèrent l'existence d'altérations très marquées au niveau des cellules des cornes antérieures. « Quelques-unes, disent-ils, ont un protoplasma grenu, non teinté par les réactifs, et un noyau atrophié ou invisible. D'autres, et le nombre en est beaucoup plus considérable, sont atrophiées, ratatinées, réfringentes et vivement teintées. Elles ne possèdent point de noyau ou ne sont pourvues que de noyaux peu visibles, et la plupart de leurs prolongements ont disparu. »

Les lésions signalées par MM. Gilbert et Lion diffèrent de celles que j'ai décrites; du reste, les manifestations symptomatiques n'étaient pas les mêmes dans les deux cas, mais il est actuellement impossible de dire s'il y a un rapport entre les phénomènes observés pendant la vie et les caractères histologiques des altérations cellulaires. Dans la paralysie produite par le bacille d'Escherich, la lésion se rapproche de la nécrose de coagulation; dans notre cas, le processus est en quelque sorte inverse, puisque dans la plupart des cellules le noyau résiste longtemps et contraste par son intégrité relative avec la dégénérescence du protoplasma. Je ferai remarquer d'ailleurs que cette dégénérescence protoplasmique constitue une modalité réactionnelle assez fréquente au cours des maladies infectieuses. Pour ne citer que quelques exemples, il suffit de rappeler qu'elle a été observée par M. Chantemesse ¹ et par moi-même ² dans les parties du cerveau sous-jacentes aux plaques de méningite tuberculeuse; qu'elle a été signalée par plusieurs auteurs et notamment par M. Schaffer ³, au niveau des cellules motrices de la moelle chez les enragés; qu'elle a été décrite par MM. Hanot et Gilbert ⁴, dans le foie des cholériques, sous le nom de *tuméfaction transparente*.

Tel est l'ensemble des faits qui démontrent que l'infection peut déterminer des myélites systématiques. Si cette notion

1. CHANTEMESSE, Études sur la méningite tuberculeuse de l'adulte. *Thèse de Paris*, 1884.

2. ROGER, Note sur un cas de méningite tuberculeuse. *Revue mensuelle des maladies de l'enfance*, 1886.

3. SCHAFER, Nouvelle contribution à la pathologie et à l'histopathologie de la rage humaine. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1889.

4. HANOT et GILBERT, Note sur les altérations histologiques du foie dans le choléra. *Archives de Physiologie*, 1885.

pathogénique n'a pu être établie d'une façon définitive que par l'expérimentation, elle semblait se dégager déjà de certaines observations cliniques. C'est ce qu'on tendait à admettre pour la paralysie infantile, dont le début fébrile et dont l'extension parfois épidémique semblaient indiquer une origine infectieuse. Mais ce n'était là qu'une hypothèse; les enfants ne meurent pas dans les premiers jours de l'affection; d'ailleurs si, par hasard, on avait l'occasion de pratiquer de bonne heure l'ensemencement de la moelle, on pourrait ne pas trouver de microbes; on ne serait pas en droit pour cela de rejeter l'origine infectieuse de la maladie; nous avons vu en effet que les myélites expérimentales ne débuteut qu'après la disparition ou la destruction des agents pathogènes. Un résultat négatif n'aurait donc aucune valeur.

Je n'ai cité la paralysie infantile qu'en me plaçant au point de vue de la pathogénie; ses lésions anatomiques diffèrent de celles que j'ai observées chez les animaux: elles ne sont pas disséminées dans toute la corne antérieure, mais se localisent sous forme de petits foyers.

L'analogie avec l'atrophie musculaire progressive me semble plus sérieuse; sans doute elle n'est pas parfaite: les amyotrophies expérimentales débuteut par les membres postérieurs, et si cette localisation peut s'expliquer par la suractivité des muscles atteints, il reste toujours une divergence importante: chez les animaux, les phénomènes se déroulent suivant une marche rapide et s'éloignent ainsi du processus si lent qu'on observe chez l'homme. La différence est indéniable: peut-être paraîtra-t-elle moins considérable si l'on réfléchit à la courte durée de la vie des animaux, à l'activité plus grande de leurs échanges nutritifs, et surtout si l'on tient compte de la façon dont nous opérons dans les laboratoires: nous introduisons dans l'organisme des quantités de microbes beaucoup trop considérables et nous nous éloignons ainsi de ce qui se passe dans la nature; il est vrai qu'il n'est guère possible d'agir autrement, puisque nous expérimentons sur des êtres nullement prédisposés à l'infection; nous sommes obligés de vaincre brutalement leur résistance pour arriver à créer une maladie.

Si l'on voulait prolonger cette étude de pathologie comparée, on pourrait passer en revue les différentes affections médullaires observées chez l'homme; il est bien évident que notre

myélite expérimentale est analogue à plusieurs, qu'elle n'est identique à aucune. Il faut donc envisager les résultats à un point de vue plus général ; nos expériences démontrent simplement le rôle de l'infection dans le développement de certaines myélites systématiques, elle confirme les relations qui existent entre les amyotrophies et les altérations des grandes cellules motrices.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

FIG. 1. — Moelle normale (corne antérieure).

AA. Cellules motrices.

FIG. 2. — Moelle du lapin X, tué 16 jours après l'inoculation, 7 jours après le début des amyotrophies.

AA. Cellules restées saines.

BBB. Cellules dont les prolongements ont disparu et dont le protoplasma est légèrement trouble.

CC. Cellules tuméfiées, dépourvues de prolongements et dont le protoplasma est teinté en rose clair.

D. Cellule atteinte de dégénérescence vacuolaire partielle.

FIG. 3. — Moelle du lapin IX, tué 32 jours après l'inoculation, 19 jours après le début des amyotrophies.

A. Cellule atteinte de dégénérescence vacuolaire partielle.

B. Cellule dont les prolongements ont disparu et dont le protoplasma est teinté en rose clair.

C. Cellule semblable à B, mais présentant en outre une vacuole.

D. Cellule presque entièrement vacuolaire, on voit encore une masse protoplasmique entourant le noyau.

EE. Cellules vacuolaires, sans noyau.

F, G. Cellules nécrosées (masse protoplasmique teintée en rose ; pas de noyau).

H, H. Vaisseaux dilatés.

FIG. 4. — Moelle du lapin VIII, tué 177 jours après l'inoculation, 165 jours après le début des amyotrophies.

Les lettres ont les mêmes significations que dans la figure 3.

Toutes ces coupes proviennent de la région lombaire.

SIMPLIFICATION DU DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE

DE LA DIPHTÉRIE

PAR M. N. SAKHAROFF, A TIFLIS.

Personne ne conteste aujourd'hui que le diagnostic sûr et précoce de la diphtérie ne puisse rendre les plus grands services, tant au point de vue de l'isolement des malades et du pronostic de la maladie, que du jugement à porter sur les moyens thérapeutiques, dont beaucoup n'ont été donnés comme efficaces que parce qu'ils avaient été appliqués dans des cas mal diagnostiqués.

L'examen microscopique des fausses membranes suffit rarement à démontrer l'existence des bacilles de Loeffler, et il y a toujours plus de sécurité à recourir aux cultures sur sérum de sang coagulé¹. Ce milieu, sur lequel le bacille diphtérique se développe plus vite que les autres, a l'inconvénient d'être d'une préparation embarrassante, et il serait utile d'en trouver un autre plus facile à se procurer, et jouissant des mêmes propriétés.

Après plusieurs essais infructueux, je me suis arrêté au blanc d'œuf cuit. Ensemencé à sa surface à l'aide d'un fil de platine, il donne en 24 heures, à la température de 33°-40°, une série de petites colonies rondes, faciles à reconnaître à leur forme convexe et à leur nuance particulière. Elles sont moins blanches que le fond sur lequel elles se détachent. Elles sont mates et peu transparentes. Parfois leur couleur, vers le 12^e jour, tourne au jaune rougeâtre ou prend des teintes chair.

1. J'ai fait par cette méthode l'examen de 19 cas de diphtérie dont le diagnostic avait été fait par des médecins exercés. C'est dans 13 cas seulement que j'ai trouvé le bacille diphtérique, dont la virulence a été démontrée par inoculation à des cobayes et à des pigeons. Dans 6 cas, je n'ai pas trouvé le bacille de Loeffler. Ces cas ont eu une marche rapide bénigne : il n'y avait pas de diphtérie.

En ensemençant à la surface du blanc d'œuf des parcelles de crachats, ou de l'urine putréfiée, on n'a que des cultures plus rares et plus tardives qu'avec le bacille diphtérique. Ce milieu est donc beaucoup plus favorable à cette recherche que la gélatine ou la gélose, et mérite d'être introduit dans la médecine pratique.

Voici comment on peut opérer. On enlève avec précaution la coquille d'un œuf frais et bien cuit, en ayant soin de toucher le moins possible le blanc avec les doigts. A sa surface, on découpe avec le couteau flambé des morceaux oblongs qu'on transporte dans des tubes flambés, au fond desquels on a versé quelques gouttes d'eau pour préserver de la dessiccation la surface de l'albumine, qui doit pourtant ne pas être humide.

L'ensemencement de la parcelle de fausse membrane se fait à la façon ordinaire, en stries parallèles au moyen du fil ou de la spatule de platine. Après 24 heures passées à 35°-40°, on trouve, dans les cas de diphtérie, de petites colonnes dont les bacilles ont souvent des formes plus caractéristiques que dans les autres milieux; les inégalités de coloration y sont plus fréquentes; les aspects de haltère, de massue, de chapelet de grains y sont plus fréquents qu'ailleurs. L'inoculation prouve que sous ces aspects divers, c'est toujours au microbe de la diphtérie qu'on a affaire.

Je ne crois pas que ce milieu puisse se substituer dans tous les cas au sérum coagulé, sur lequel les bacilles diphtériques croissent plus facilement, mais le blanc d'œuf est incontestablement plus commode à se procurer, et peut rendre les mêmes services dans la pratique.

LES
VACCINATIONS ANTIRABIQUES
A L'INSTITUT PASTEUR EN 1891
PAR HENRI POTTEVIN.

I

Pendant l'année 1891, 1,564 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur.

Parmi les 1,564 personnes traitées, 9 sont mortes de rage après la fin du traitement ¹.

La mortalité totale a donc été de 0,57 0/0.

Chez cinq d'entre elles les premiers symptômes rabiques se sont manifestés moins de quinze jours après la dernière inoculation ¹.

Pour juger de l'efficacité des vaccinations, il y a lieu de ne faire entrer en ligne de compte que les 4 personnes prises de rage plus de quinze jours après la fin du traitement. En effet, nous avons fait observer à diverses reprises, antérieurement, que les animaux inoculés après trépanation, sous la dure-mère, avec le virus même de la rage des rues, mettent en général 14 à 18 jours à prendre la maladie. Il en résulte que quand les premiers symptômes se manifestent chez un malade moins de quinze jours après la dernière inoculation, on doit admettre que les centres nerveux ont été envahis par le virus pendant le traitement. Celui-ci n'ayant pas été achevé n'a pu avoir toute son efficacité. En tenant

1. On trouvera, dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, les noms des personnes décédées, ainsi que les circonstances de leurs morsures et de leur maladie. Le total ci-dessus ne coïncide pas avec la somme des totaux mensuels donnés dans le *Journal*, à cause d'une erreur commise dans le mois de décembre 1891, pour lequel on a reproduit les chiffres de novembre.

compte de ces observations, les résultats pour l'année 1891 s'établissent de la façon suivante :

Personnes traitées	1,559 ¹
Morts	4
Mortalité.	0,25 0/0

Il est intéressant de rapprocher ces chiffres de ceux fournis par les statistiques des années précédentes.

Le tableau ci-dessous indique les résultats généraux des vaccinations depuis l'origine :

ANNÉES	PERSONNES TRAITÉES	MORTS	MORTALITÉ
1886	2.671	25	0.94 %.
1887	1.770	13	0.73
1888	1.622	9	0.55
1889	1.830	7	0.38
1890	1.540	5	0.32
1891	1.559	4	0.25
	10.992	63	0.57

La mortalité, très faible dès le début, est encore plus faible cette année. Ce résultat est-il dû à une plus sûre appréciation de la gravité des morsures, et à une meilleure application du traitement? Cela est probable. C'est en consultant la description des morsures chez les personnes mortes de rage malgré les inoculations, que l'on est arrivé à déterminer d'une façon plus précise, d'après la gravité des lésions, le traitement le plus convenable pour chaque cas.

II

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories formant chacune un tableau.

1^o TABLEAU A. Personnes pour lesquelles la rage de l'animal mordeur est expérimentalement démontrée par le développement

1. Ce chiffre est différent de celui de 1,564 indiqué plus haut. C'est que, comme nous ne comptons pas dans la mortalité les personnes prises de rage dans les 15 jours qui suivent le traitement, nous devons aussi, pour être rigoureux, les retrancher du nombre des personnes traitées.

de la rage chez un animal inoculé, ou mordu en même temps que la personne traitée;

2° TABLEAU B. Personnes pour lesquelles la rage de l'animal mordeur est constatée par examen vétérinaire;

3° TABLEAU C. Personnes mordues pas des animaux suspects de rage.

Les morsures, au point de vue de leur gravité, sont divisées en trois classes :

Morsures à la tête et au visage ;

Morsures aux mains ;

Morsures aux membres et au tronc.

Voici les résultats détaillés pour l'année 1891 :

	MORSURES A LA TÊTE ET AU VISAGE			MORSURES AUX MAINS			MORSURES AUX MEMBRES ET AU TRONC			TOTAUX		
	Personnes traitées	Morts	Mortalité	Personnes traitées	Morts	Mortalité	Personnes traitées	Morts	Mortalité	Personnes traitées	Morts	Mortalité
Tableau A.....	32	0	0	494	0	0	98	0	0	324	0	0
Tableau B.....	82	0	1	345	2	0.36	288	1	0.34	915	4	0.44
Tableau C.....	23	0	0	461	0	0	136	0	0	320	0	0
	137	0	1	900	2	0.22	522	1	0.19	1.559	4	0.25

Le degré de gravité des morsures se manifeste par la comparaison des chiffres suivants fournis par la statistique générale depuis l'origine des vaccinations :

	PERSONNES TRAITÉES	MORTS	MORTALITÉ
Morsures à la tête et au visage...	926	47	4.83
Morsures aux mains.....	6.465	36	0.58
Morsures aux membres et au tronc.	3.901	10	0.25
Totaux	10.992	63	0.57

Les morsures à la tête, graves déjà par elles-mêmes, le sont encore davantage par suite du rapide développement de la rage

qui en résulte. Pendant l'année 1891, trois personnes ont été prises de rage avant la fin du traitement; deux autres ont présenté les premiers symptômes le jour même de la dernière inoculation¹. De ces cinq personnes, quatre avaient été mordues à la tête. Cette gravité particulière, due à ce que le virus rabique n'a qu'un court trajet à parcourir pour aller de la tête ou de la face au cerveau et à la portion supérieure de la moelle, fait qu'il est très prudent de traiter, surtout les personnes mordues à la tête, aussi tôt que possible après la morsure.

III

Parmi les 1,563 personnes qui, en 1891, ont subi le traitement antirabique, il y a eu 232 étrangers dont voici le détail par nationalité :

Angleterre	42	Hollande	9
Allemagne	4	Italie	3
Autriche	1	Portugal	48
Belgique	39	Russie	1
Bulgarie	1	Roumanie	1
Égypte	4	Suisse	11
Espagne	26	Turquie	4
Grèce	27	Indes Anglaises	11

Depuis la découverte de la vaccination antirabique, on a fondé à l'étranger de nombreux laboratoires dans lesquels la même méthode est appliquée. Il n'y a donc à tirer des chiffres précédents aucune conclusion au sujet de la distribution de la rage chez les nations étrangères.

En France, par les soins de l'administration, la très grande partie des personnes mordues se présente à l'Institut Pasteur; il y a donc lieu de croire que le nombre des personnes traitées est proportionnel au nombre des cas de rage existant chez les chiens, dans la région habitée par ces personnes.

1. Les deux cas dans lesquels la rage s'est manifestée le jour même de la dernière inoculation sont compris dans les 9 cas de mort relevés au début de cette statistique. Les trois personnes chez lesquelles la mort est survenue avant la fin des inoculations ne sont comprises ni au nombre des morts ni au nombre des personnes traitées, puisque, en réalité, elles n'ont pas subi le traitement complet.

Voici par départements la distribution des cas de morsures pendant les quatre dernières années :

	1888	1889	1890	1891	TOTAL		1888	1889	1890	1891	TOTAL
Ain.....	9	17	14	13	53	Loire-Inférieure.....	4	11	2	0	17
Aisne.....	3	3	8	8	24	Loiret.....	16	11	2	0	29
Allier.....	7	6	9	0	22	Lot.....	6	29	10	2	47
Alpes (Basses).....	1	3	0	0	4	Lot-et-Garonne.....	18	14	30	31	93
Alpes (Hautes).....	1	1	2	8	12	Lozère.....	3	9	1	1	14
Ardèche.....	22	18	11	14	65	Maine-et-Loire.....	2	3	1	1	7
Ardennes.....	0	7	0	1	8	Manche.....	1	9	9	9	28
Alpes-Maritimes.....	0	1	40	32	73	Marne.....	6	1	1	0	8
Ariège.....	3	1	2	3	9	Marne (Haute).....	4	2	7	1	14
Aube.....	3	0	0	0	3	Mayenne.....	0	0	1	1	2
Aude.....	16	21	9	29	69	Meurthe-et-Moselle...	5	25	6	4	40
Aveyron.....	5	17	14	9	45	Morbihan.....	24	24	2	3	53
Alger.....	50	62	89	90	291	Nièvre.....	4	3	0	0	7
Bouches-du-Rhône...	90	29	40	36	195	Nord.....	9	26	13	42	90
Calvados.....	0	2	0	7	9	Oise.....	24	16	11	13	64
Cantal.....	13	12	13	1	39	Orne.....	2	1	0	1	4
Charente.....	2	4	15	3	24	Pas-de-Calais.....	9	12	14	2	27
Charente-Inférieure...	3	12	9	6	30	Puy-de-Dôme.....	21	13	6	1	41
Cher.....	6	1	0	1	8	Pyrénées (Basses)...	40	20	67	50	177
Corrèze.....	6	4	7	3	20	Pyrénées (Hautes)...	18	25	7	8	58
Corse.....	2	1	0	0	3	Pyrénées - Orien-					
Côte-d'Or.....	3	6	11	7	27	tales.....	17	15	8	17	57
Côtes-du-Nord.....	21	12	0	3	36	Rhône.....	48	96	92	72	308
Creuse.....	3	4	5	8	20	Rhin (Haut).....	0	0	0	2	2
Constantine.....	41	41	27	39	148	Saône (Haute).....	1	5	1	27	34
Dordogne.....	12	10	11	8	41	Saône-et-Loire.....	11	14	11	4	40
Doubs.....	3	1	11	5	20	Savoie.....	19	15	14	31	79
Drôme.....	20	18	31	23	92	Savoie (Haute).....	11	22	1	13	47
Eure.....	8	8	0	3	19	Seine.....	450	262	113	225	1.050
Eure-et-Loire.....	1	2	0	2	5	Seine-et-Marne.....	14	6	2	5	27
Finistère.....	18	16	6	0	40	Seine-Inférieure.....	22	31	10	2	65
Gard.....	38	24	27	27	116	Sèvres (Deux).....	1	3	0	6	10
Garonne (Haute).....	8	39	14	13	74	Somme.....	8	4	9	5	22
Gers.....	11	15	16	11	53	Seine-et-Oise.....	59	55	37	58	209
Gironde.....	30	22	34	27	113	Tarn.....	5	14	18	10	47
Hérault.....	30	33	25	28	116	Tarn-et-Garonne.....	11	13	15	8	47
Ille-et-Vilaine.....	14	10	11	1	36	Tunisie.....	9	5	23	24	58
Indre.....	1	1	4	5	11	Var.....	2	3	19	4	28
Indre-et-Loire.....	5	1	7	2	15	Vendée.....	3	0	0	3	6
Isère.....	33	59	17	22	131	Vaucluse.....	8	21	15	17	61
Jura.....	3	3	9	6	21	Vienne.....	0	1	0	6	7
Landes.....	11	14	19	19	63	Vienne (Haute).....	7	5	3	3	18
Loir-et-Cher.....	0	1	1	16	18	Vosges.....	3	7	9	14	33
Loire.....	24	52	21	59	156	Yonne.....	1	1	2	0	4
Loire (Haute).....	6	5	0	15	26	Oran.....	52	74	95	67	288

Certains départements fournissent, depuis l'origine des vaccinations, un très faible contingent de personnes mordues; d'autres, et parmi ceux-ci il faut citer en première ligne les départements d'Algérie, le Rhône, la Loire, les Basses-Pyrénées, envoient à l'Institut Pasteur un nombre toujours considérable de mordus.

Dans la Seine il s'était produit, pendant les trois dernières années, une décroissance qui n'a pas persisté. Le nombre des personnes qui se sont présentées aux inoculations est en effet :

En 1888	450
En 1889	262
En 1890	113
En 1891	225

La Préfecture de police, par les soins de M. le docteur Dujardin-Beaumetz, publie chaque année la statistique des personnes mordues dans le département de la Seine. C'est dans cette statistique que trouvent naturellement leur place les réflexions que peut faire naître cette recrudescence du nombre des mordus dans la capitale de la France.

REVUES ET ANALYSES

S. WINOGRADSKY. Contribution à la morphologie des organismes de la nitrification. *Archives des sciences biologiques, publiées par l'Institut impérial de médecine expérimentale, à Saint-Petersbourg.* 1892.

L'Institut impérial de médecine de Saint-Petersbourg vient de publier un premier volume d'*Archives* qui donne une bonne idée de l'activité scientifique qui y règne. Les *Annales* souhaitent avec plaisir la bienvenue à un frère, cadet par l'âge, mais aîné par la taille, le format, et le luxe d'impression. Les *Archives* sont imprimées en deux langues, russe et française, et elles débutent par un court historique de la fondation de l'Institut, et l'exposé de son organisation actuelle, qui est très vaste et très bien entendue. Elles se terminent par une notice nécrologique sur M. Helman, que les *Annales* ont eu comme collaborateur, et dont elles déplorent aussi la fin prématurée. On y trouve en outre dix mémoires scientifiques sur des sujets variés. Nous aurons certainement occasion de les analyser, car aucun d'eux ne mérite de passer inaperçu, mais pour aujourd'hui, nous nous bornons à donner un résumé de celui que M. Winogradsky a consacré à la morphologie des organismes de la nitrification. Les *Annales*, qui ont eu la primeur des beaux travaux de M. Winogradsky sur ce sujet, doivent à leurs lecteurs de les tenir au courant des derniers progrès.

M. Winogradsky avait déjà décrit deux états pour le ferment nitreux, celui qui transforme l'ammoniaque surtout en nitrites: un état gélatineux, dans lequel le microbe se développe surtout au fond des vases, laissant le liquide surnageant limpide et libre de tout voile; un état de cellules libres mobiles, dans lequel les microbes envahissent tout le liquide et le troublent. A ces états vient se joindre aujourd'hui l'état de zoogée véritable, et, pour savoir comment ils se succèdent, nous n'avons qu'à étudier la culture d'un des ferments nitreux, par exemple celui de la terre de Zurich.

Récemment ensemencée, une culture en milieu liquide, dans une solution de sulfate d'ammoniaque additionnée de carbonate de magnésie, donne déjà, après 4 ou 5 jours, une forte réaction de nitrites, et on n'y voit, en fait de microbes, que des colonies isolées, groupées en masses plus ou moins volumineuses, qu'entoure une couche de substance amorphe. Ce sont de véritables zoogées, dont chacune résulte du développement d'une des semences. Le liquide est à ce moment tout à fait limpide.

Au bout du 7^e jour, souvent plus tard, ce liquide devient trouble, et on le trouve rempli de microbes mobiles, ressemblant à des monades, et munis de cils. Ces microbes proviennent de la dislocation des colonies du début, dont on peut suivre la désagrégation au microscope en s'y prenant à temps. A ce moment la réaction du nitrite est à son maximum, mais l'ammoniaque ne fait jamais complètement défaut.

Après 24 ou 48 heures, ce trouble commence à disparaître, et la couche de carbonate du fond prend cet aspect de membrane gélatineuse que M. Winogradsky a décrit dans ces *Annales*. Les cellules du microbe sont uniformément réparties dans tout le dépôt : il n'y a plus de ces colonies isolées, de ces zooglées observées au début. La nitrification est alors terminée.

Ce dernier état du microbe ne mérite évidemment pas un nom spécial. En revanche, il faut bien distinguer les deux autres, la *forme monade* et la *forme zooglée*. Le même microbe peut les présenter successivement, et comme elles sont morphologiquement bien différentes, on serait tenté de croire qu'elles appartiennent à deux espèces différentes si on n'en avait pas suivi la filiation. Ce qu'il y a de curieux, c'est que cette filiation ne se produit pas toujours : il y a des cultures qui ont une tendance à prendre de préférence la forme monade, d'autres la forme zooglée. On maintient cette tendance, et même on l'accentue par des soins cultureux. Ainsi l'état ordinairement passager, de monade et de trouble concomitant dans le liquide, peut être conservé plusieurs jours, par des additions bien mesurées et convenablement espacées de sel ammoniacal. On le voit cesser quand l'ammoniaque manque, et reparaître quand on en ajoute.

Cette double tendance à former des monades ou des zooglées peut aussi devenir héréditaire, et on a alors, en apparence, comme deux races du microbe. Puis la forme absente reparaît de nouveau, sans qu'on sache pourquoi. Dans la nature le microbe se comporte sans doute de même, et cela est important, car à l'état de monades le ferment est beaucoup plus actif qu'à l'état de zooglées.

Voilà pour la culture en milieux liquides. Dans les cultures sur silice gélatineuse, les colonies apparaissent souvent dès le 4^e jour, sous forme de corpuscules ronds, très réfringents, à contour noir. Plus tard ces colonies prennent une teinte brune. Elles correspondent tout à fait aux zooglées des milieux liquides ; comme elles, elles sont bien difficiles à disloquer. Au bout de 10 à 14 jours, on les voit s'entourer d'une auréole plus claire et irrégulière, et en les touchant avec la pointe d'une aiguille, on constate qu'elles sont devenues molles, visqueuses comme une colonie bactérienne ordinaire. Elles sont alors formées de cellules ovales qui, à peine introduites dans l'eau, se mettent en mouvement ; nous retrouvons là nos monades. Cette mobilité ne dure pas longtemps

d'ordinaire, mais là aussi on voit se manifester, dans une même culture ou des cultures successives, la tendance à former soit les colonies sombres et compactes du début, soit les colonies claires et molles de la fin. Ici encore un bactériologiste qui ajouterait trop d'importance à l'aspect des colonies croirait volontiers avoir sous les yeux deux microbes différents, ce qui serait une erreur.

On voit quels faits curieux présente la morphologie d'un être aussi simple que ce ferment nitreux de la terre de Zurich. On ne sera pas moins surpris de ceux qui vont suivre.

En étudiant les ferments nitreux de terres de diverses provenances, M. Winogradsky a vu que chacune de ces terres n'en contenait qu'une seule espèce, mais que les espèces étaient d'ordinaire différentes d'une terre à l'autre. Ainsi celui d'une terre de Kasan ressemblait en tout à celui de Zurich que nous avons décrit, sauf qu'il atteignait à peine la moitié ou les deux tiers de ses dimensions. Ce caractère distinctif s'est montré si constant dans les observations qu'il peut au moins servir à caractériser une variété locale, mais voici des différences plus accentuées.

Dans une terre de Buitenzorg (Java), on a retrouvé la forme zooglée, formée seulement ici, non de cellules, mais de colonies groupées comme celles des *Glauocystis*. Ces colonies se désagrègent aussi en monades mobiles, mais ces monades diffèrent de celles de la terre de Zurich en ce qu'elles ont des cils d'une longueur démesurée, atteignant 30μ , lorsque les êtres qui les portent ont à peine $0,5$ à $0,6\mu$. Le microbe est un peu plus rond que celui de Zurich, et pourrait porter le nom de *coccus*.

Le ferment nitreux d'une terre de Tokio et ceux de 4 terres d'Afrique se sont montrés plus petits que celui de la terre de Zurich. Celui de la terre de Quito a déjà été figuré et décrit dans ces *Annales*; c'est un *coccus* assez gros, ne donnant jamais la forme zooglée que nous avons décrite plus haut, et dont la mobilité est en outre douteuse. D'une terre de Campinas (Brésil), M. Winogradsky a aussi isolé un *coccus* dont le diamètre atteint 2μ , et qui est jusqu'ici le plus grand des organismes nitrificateurs.

On voit par cette courte revue qu'il n'y a pas qu'une seule espèce de ferment nitreux; il y en a plusieurs, et de plus la différence entre les caractères morphologiques de ceux du vieux monde et du nouveau monde est trop marquée pour qu'on puisse les classer dans un même genre. Il en faut au moins faire deux genres et plusieurs espèces.

M. Winogradsky propose de nommer *nitrobactéries* tout ce groupe de microbes capables de transformer l'ammoniaque en acide nitrique. Les ferments nitreux du vieux monde feraient partie du genre *nitrosomonas*, avec au moins deux espèces *N. europe*: *N. javanensis*, et peut-

être d'autres. Les microbes nitreux du nouveau monde feraient le genre *nitrosococcus*. Le ferment nitrique porterait le nom de *nitrobacter*.

On voit qu'il y a encore beaucoup à faire dans cette question difficile. Mais le passé répond de l'avenir, et quand on songe aux progrès qu'elle a faits depuis 3 ou 4 ans, grâce surtout aux efforts de M. Winogradsky, il y a des raisons d'espérer qu'on y avancera de plus en plus vite, et qu'un jour nous cultiverons, au grand bénéfice de notre agriculture, les ferments nitreux et nitriques dans le sol comme nous cultivons la levure de bière dans nos brasseries.

Dx.

SCHAFER ET DE FREUDENREICH. — Recherches quantitatives sur les cellules de levures et de bactéries contenues dans les vins naturels et artificiels. *Landw. Jahrbuch. der Schweiz*, 1891.

MM. Schaffer et de Freudenreich ont eu l'idée de rechercher quels étaient le nombre et la nature des cellules de ferments contenues dans divers vins naturels et artificiels. Ils ont employé pour cela la méthode des plaques en opérant, suivant les cas, sur $1/2$, $1/10$, $1/20$ de centimètre cube de vin. Ils ont trouvé des résultats intéressants, brièvement résumés dans les lignes suivantes qui donnent la provenance, la couleur, l'âge du vin, le nombre des colonies par centimètre cube et la nature de ces colonies, étudiée naturellement en gros.

VINS NATURELS

Rivez blanc,	4 mois.	3000 col.	Seulement de la levure et une seule espèce.
Corsier blanc,	4 »	4000	—
Vin rouge de France	4 »	2300	—
Dezaley blanc,	16 »	20000	—
Etna blanc,	7 »	800 col.	Seulement des bactéries, 5 espèces environ.
Vin blanc du Rhin,	8 ans.	266 col.	Seulement des levures.
Mâcon rouge	4 »	236	—
Dôle rouge	15 »	489	—
Margaux rouge	15 ans.	0 col.	Les plaques sont restées stériles.
Dezaley blanc vieux		0	—

VINS ARTIFICIELS

Vin artificiel	120000 col. de levure, 15000 col. de bactéries, et 300 myceliums.
Vin de raisins secs n° 1.	110 col. de levure et beaucoup de coccus.
— n° 2.	40 —
— n° 3.	126000 col. dont $1/10$ de levure, et $9/10$ de coccus.
Vin artificiel.	136000 col., formées uniquement de bactéries, bacilles et coccus.
—	1000 col. de levure et environ 6000 de bactéries.
Vin de raisins secs.	4000 col. de bactéries faites presque toutes d'un bacille liquéfiant. Pas de levure.
Vin blanc	2400 col., faites surtout de levures.

On voit qu'il n'y a guère que des globules de levures dans les bons vins naturels. Le vin de l'Etna fait seule exception, mais ce vin était

trouble et avait évidemment été mal conservé. Les vins très vieux sont même stériles, soit que les dépôts de matière colorante aient emprisonné les globules de levure, soit que ces levures soient mortes.

Au contraire les vins artificiels contiennent surtout des bactéries, ce qui n'a rien de surprenant, étant données les matières premières avec lesquelles ils sont fabriqués, et la malpropreté ordinaire des locaux dans lesquels on les produit. Peut-être est-ce dans cette richesse en bactéries, plutôt que dans leur constitution chimique qu'il faut rechercher la cause des troubles digestifs qu'ils amènent parfois.

Dx.

INSTITUT PASTEUR

Personnes traitées prises de rage pendant le traitement.

SEGURA (Sébastien), 47 ans, mordu le 14 avril, traité à l'Institut Pasteur du 24 avril au 13 mai.

Ségura avait reçu aux poignets droit et gauche six morsures, très pénétrantes, une septième morsure également très forte était située à la tête au-dessus de l'arcade sourcilière droite.

Le 13 mai, Ségura ne se présente pas aux inoculations, il se plaint de violentes douleurs localisées au-dessus de l'arcade sourcilière droite, dans la région où était située la morsure. Le 13 au soir il est transporté à l'hôpital Necker, il meurt le 15 à 7 heures du soir.

M. Brémont, vétérinaire sanitaire à Oran, avait, à l'autopsie du chien mordeur, constaté les symptômes rabiques.

LABELLE (Pierre), 72 ans, de Labèze (Haute-Garonne), mordu le 9 avril, traité à l'Institut Pasteur du 15 avril au 5 mai.

Labelle avait reçu à la joue gauche une morsure très pénétrante, et au-dessous de l'oreille gauche cinq morsures, dont deux s'étendaient sur une longueur de 3 centimètres.

Rentré chez lui le 7 mai, Labelle paraissait en proie à une fort grande agitation nerveuse. En l'absence du médecin, l'instituteur fut prié de se rendre auprès du malade, une première crise avait eu lieu à 4 heures, une seconde se produisit à 10 heures du soir et amena la mort.

L'instituteur, qui seul a vu Labelle de près, constate qu'il a bu et mangé jusqu'au dernier moment, que ses yeux sont restés clairs; il ne croit pas à la rage.

Les renseignements qui précèdent, empruntés au rapport adressé à M. le préfet de la Haute-Garonne par M. le maire de Labèze, n'indiquent pas d'une façon certaine que Labelle ait succombé à la rage.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE ¹ DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — MAI 1892.

	A	B	C
Morsures à la tête { simples	» 3	» 5	» 2
et à la figure { multiples	» 4	» 5	» 1
Cautérisations efficaces	» » »	» » »	» » »
— inefficaces	1 » »	1 » »	1 » »
Pas de cautérisation	6 » »	4 » »	2 » »
Morsures aux mains { simples	» 4	» 18	» 13
{ multiples	» 8	» 27	» 21
Cautérisations efficaces	» » »	» » »	» » »
— inefficaces	6 » »	19 » »	12 » »
Pas de cautérisation	6 » »	26 » »	22 » »
Morsures aux mem- { simples	» 3	» 11	» 13
bres et au tronc { multiples	» 2	» 7	» 14
Cautérisations efficaces	» » »	» » »	» » »
— inefficaces	3 » »	8 » »	8 » »
Pas de cautérisation	2 » »	10 » »	19 » »
Habits déchirés	3 » »	15 » »	25 » »
Morsures à nu	2 » »	3 » »	2 » »
Morsures multiples en divers points du corps	» » »	» » 4	» » »
Cautérisations efficaces	» » »	» » »	» » »
— inefficaces	» » »	3 » »	» » »
Pas de cautérisation	» » »	1 » »	1 » »
Habits déchirés	» » »	4 » »	1 » »
Morsures à nu	» » »	» » »	» » »
Totaux. { Français et Algériens	24	67	55
{ Etrangers	» 24	» 5	» 9
	A	B	C
TOTAL GÉNÉRAL	160		

Les animaux mordeurs ont été : chiens, 148 fois; chats, 10 fois.

Deux personnes avaient été mordues par un enfant qui est mort de la rage.

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; la colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; la colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et Cie.

Fig. 1

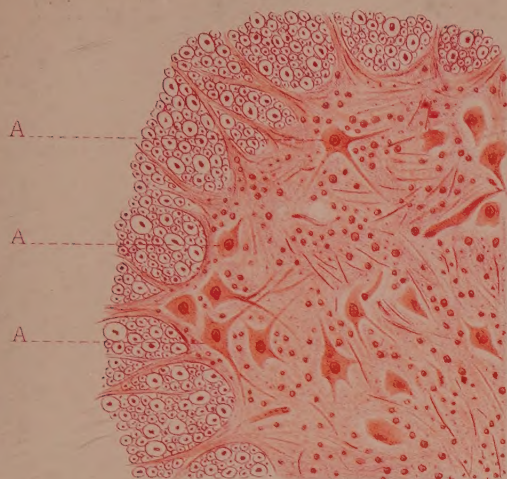


Fig. 2

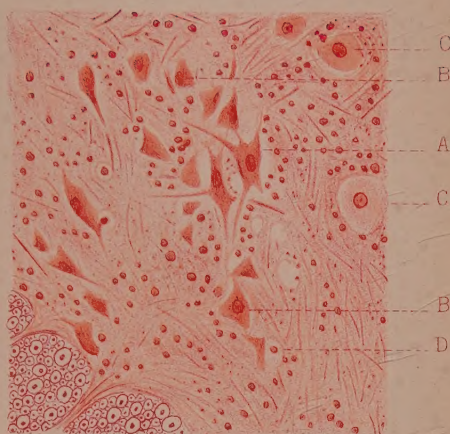


Fig. 3



Fig. 4

